



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS  
ALIMENTOS**

**LAURA PEREIRA GARCIA**

**DETECÇÃO DE FUMONISINAS E  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM  
GRÃOS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) E EFEITO DE  
DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM**

**FLORIANÓPOLIS  
2015**



**LAURA PEREIRA GARCIA**

**DETECÇÃO DE FUMONISINAS E  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM  
GRÃOS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) E EFEITO DE  
DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vildes Maria Scussel

**FLORIANÓPOLIS  
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária  
da UFSC.

Garcia, Laura Pereira

DETECÇÃO DE FUMONISINAS E HIDROCARBONETOS  
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM GRÃOS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) E  
EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM / Laura Pereira  
Garcia ; orientadora ; Vildes Maria Scussel –Florianópolis, SC, 2015.

138p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro  
Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referência

1. Ciência dos Alimentos. 2. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 3.  
fumonisinas. 4. soja. 5. veganos. I. Scussel, Vildes Maria. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos  
Alimentos. III. Título.

**Laura Pereira Garcia**

**DETECÇÃO DE FUMONISINAS E  
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM  
GRÃOS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) E EFEITO DE  
DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 24 de abril 2015.

---

Profª. Dr<sup>a</sup>. Roseane Fett

Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vildes Maria Scussel  
UFSC – Presidente

---

Prof. Dr. César Damian  
UFSC

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup>. Evanilda Teixeira  
UFSC

---

Dr<sup>a</sup>. Karina Koerich de Souza



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus que sempre esteve presente em minha vida, me concedendo força e saúde para que superar os desafios.

À minha família, por todo amor, carinho, dedicação, compreensão, e incentivo, que mesmo longe estão sempre presentes.

À minha orientadora, Dr<sup>a</sup> Vildes Scussel, pela oportunidade e aprendizado adquirido.

À Dr<sup>a</sup> Silvia Tfouni por aceitar fazer parte desse trabalho e por suas contribuições.

Ao Victor Costa, representante da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), por ceder amostras, pelas conversas agradáveis e toda assistência prestada.

A minha grande amiga e companheira Camila Bellettini, que me acompanha sempre, e por todo amor, dedicação e paciência que tem comigo.

Um super obrigada especial para as minhas colegas e grandes amigas que Florianópolis me presenteou, Geovana Savi, Maristela Martins e Janaína Nones pela amizade e apoio em incontáveis momentos. As meninas do laboratório, Maria Eduarda Pereira, Stephanie Machado, Karim Piacentini, Karolina Santos, Camila Siedlarczyk por trabalharem junto e auxiliarem nos experimentos, pelas risadas e parceria. A toda a família LABMICO que permanecerá em meu coração.

Aos amigos que fiz no período de estadia na Argentina, Dr<sup>a</sup> Silvia Resnik, Marcela Reynoso e Victor Londono, pela gentil hospitalidade, amizade e conhecimento.

Aos professores da banca examinadora, pelo aceite do convite para participar desse trabalho com suas valiosas contribuições. Muito obrigada pela grande honra e prazer de poder contar com suas presenças, interesse, colaboração e competência.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela oportunidade da realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio bolsa concedido.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho, o meu mais sincero. MUITO OBRIGADA!!!



“Nada é mais difícil de realizar, mais perigoso de conduzir, ou mais incerto quanto ao êxito, do que uma nova ordem das coisas, pois a inovação tem como inimigos todos os que prosperaram sob as condições antigas e, como tímidos aliados, os que podem se dar bem nas novas condições.”  
(Maquiavel)



## RESUMO

A soja é uma cultura produzida em um sistema de agricultura moderna, portanto baseado no uso de energia fóssil, insumos industriais, fertilizantes químicos, agrotóxicos, mecanização, pouca mão-de-obra, variedades geneticamente modificadas de alto potencial produtivo. O crescimento na produção de soja no Brasil vem sendo estimulado pelo aumento da demanda do grão como uma fonte de proteína e calorias boa e de baixo custo, além de ser destinada para produção de alimentos e ração animal. Participando como uma importante parcela na balança comercial do país, representando mais de 14 % das exportações nacionais. O objetivo deste trabalho foi de averiguar a qualidade e segurança de grãos de soja com a finalidade de verificar o quanto a temperatura e tempo de secagem dos grãos contribui para a formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs); e qualidade e segurança de grãos de soja disponíveis para compra em lojas especializadas, com o intuito de investigar a possível presença de fungos, micotoxinas e HPAs e suas possíveis causas. Foram realizados diferentes tratamentos de secagem nas amostras, onde as variáveis foram tempo (2, 4 ou 6 horas) e temperatura (70, 90, 110, 130 e 150 °C). Os resultados demonstraram que os HPAs foram formados e contribuíram para a contaminação dos grãos de soja, independente das temperaturas utilizadas, e tempo de exposição dos grãos, Chry seguido de 5MeChry foram os HPAs encontrados com maior frequência nas amostras analisadas e em níveis mais elevados. Para outro trabalho, foram coletadas 39 amostras soja (grão e aromatizadas), a averiguação da qualidade dessas amostras foi realizada através (a) quantificação da presença de HPAs e fumonisinas (FBs), (b) levantamento e identificação de fungos, e (c) possíveis alterações no conteúdo de água [umidade (mc) e atividade em água (aw)] e pH. A contaminação por HPAs foi maior que por fumonisinas, 80 % das amostras apresentaram contaminação por exclusivamente por HPAs e 3 % apresentaram contaminação somente por fumonisinas, 10 % das amostras estavam contaminadas com ambos, e exclusivamente 8 % das amostras não apresentaram nenhuma contaminação. Do total de amostras avaliadas, foram encontrados 3 gêneros fúngicos, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, e somente em uma amostra foi identificada uma cepa toxigênica. Os valores para apresentados pelas amostras comerciais de mc variaram entre 8,19 - 12,89 %, para aw 0,43 - 0,71 e para pH 6,34 - 6,57. Em síntese, os resultados demonstraram contaminação nas amostras estudadas prejudicando a qualidade das amostras fornecidas a alimentação

especialmente dos veganos, que são os consumidores mais frequentes desses produtos. Os resultados podem contribuir para aprimoramento e/ou aplicação de estratégias mais eficazes, com o intuito de assegurar o correto processo de secagem e armazenamento soja, e para demonstrar a necessidade de implementação de legislação para estes contaminantes.

**Palavras-chave:** hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Fumonisinias. Soja. Vegano.

## ABSTRACT

Soy is a culture produced in a modern farming system, therefore based on the use fossil energy, industrial inputs, chemical fertilizers, pesticides, mechanization, little manpower, genetically modified varieties of high potential productive. The growth in soybeans in Brazil has been stimulated by increased demand grain as a protein source, good calories, and low-cost, Besides being destined for food production and animal feed. Participating as an important parcel in balance commercial country, representing more than 14% of national export. The objective this work It was ascertain the quality and safety of soybeans, in order check how much the temperature and time drying the grains contributes to formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); and quality and safety of soybeans available to purchase in especializas shops, in order to investigate possible presence of fungi, mycotoxins and PAHs and their possible causes. Was performed different treatments drying in the samples, where the variables It was time (2, 4 or 6 hours) and temperature (70, 90, 110, 130 and 150 ° C). The results they demonstrated that PAHs was formed and contributed for the contamination of soybeans, independent the temperatures used, and exposure time of the grains, chry followed by 5MeChry were the PAHs found more frequently in the samples and at higher levels. To other work, 39 samples were collected of soy (grain and aromatized) to investigate the quality these samples It was performed through (a) quantification the presence of PAHs and fumonisins (FBs) (b) survey and identification of fungi, and (c) possible changes in water content [moisture (mc) and water activity (aw)] and pH. The contamination by PAHs was higher per fumonisins, 80% of samples were contaminated exclusively by PAHs and 3% presented contamination only by fumonisins, 10% of samples was contaminated with both, and only 8% of samples showed no contamination. Of total of samples tested were found 3 genera of fungi, *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*, and only in a sample It was identified one toxigenic strain. The amounts presents by commercial samples of mc ranged from 8.19 to 12.89%, to aw 0.43 to 0.71 and to pH 6.34 to 6.57. In synthesis, the results they demonstrated contamination in the samples studied hurting the quality of samples provided, the feeding especially of the vegans, who are consumers more frequently these products. The results may contribute for improvement and / or application of strategies more effective, in order to ensure the correct process drying and storage of soy, and to

demonstrate the necessity implementation legislation to these contaminants.

**Keywords:** Polycyclic aromatic hydrocarbons. Fumonisin. Soybean. Vegan.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

<b>Figura 1.</b> Ciclo vegetativo da soja ( <i>Glycine max</i> L.) do estabelecimento a maturação. ....	29
<b>Figura 2.</b> Produção de soja entre as safras de 2007 a 2012/13. ....	31
<b>Figura 3.</b> Estrutura dos principais hidrocarbonetos policíclicos aromáticos .....	38
<b>Figura 4.</b> Esquema representativo de formação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. ....	40
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática da (a) conversão enzimática do benzo(a)pireno e (b) reação dos HPAs no organismo humano. ....	45
<b>Figura 6.</b> Estrutura química das fumonisinas. ....	61

### CAPÍTULO 2

<b>Figura 1.</b> Fluxograma representativo do tratamento térmico e análises realizadas nas amostras de soja.....	83
<b>Figura 2.</b> Gráfico do somatório de HPAs dos tratamentos de secagem.....	85

### CAPÍTULO 3

<b>Figura 1.</b> Quantidade de HPAs simultaneamente detectados nas amostras de soja ( <i>Glycine max</i> L.) vendidas na região sul do Brasil.....	101
--	-----

### CAPÍTULO 4

<b>Figura 1.</b> Total gêneros de fungos isolados nas amostras de soja em grãos ( <i>Glycine max</i> L.) vendidas no Sul do Brasi.....	120
--	-----





## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1.</b> Propriedades físico-químicas dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos .....	43
<b>Tabela 2.</b> Legislação da Comunidade Europeia para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diversos alimentos .....	48
<b>Tabela 3.</b> Metodologias utilizadas para quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diferentes alimentos .....	49

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b> Dados dos HPAs ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) formados durante o processo de secagem dos grãos de soja ( <i>Glycine max</i> L.) a diferentes temperaturas e tempos de exposição.....	87
<b>Tabela 2.</b> Dados de pH, atividade de água e umidade das amostras de soja ( <i>Glycine max</i> L.) tratadas termicamente.....	88

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b> Dados de coleta e características das amostras.....	104
<b>Tabela 2.</b> Níveis de HPAs em grãos de soja ( <i>Glycine max</i> L.) em amostras de diferentes origens e tipos.....	106

### CAPÍTULO 4

<b>Tabela 1.</b> Dados de coleta e características das amostras.....	122
<b>Tabela 2.</b> Níveis de fumonisinas e fungos isolados de amostras positivas de soja comercializados no Sul do Brasil.....	124



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACE</b>	Acenafteno
<b>ACN</b>	Acetonitrila
<b>ACY</b>	Acenaftileno
<b>AN</b>	Antraceno
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>Aw</b>	Atividade de água
<b>BaA</b>	Benzo(a)antraceno
<b>BaP</b>	Benzo(a)pireno
<b>BbF</b>	Benzo(b)fluoranteno
<b>BkF</b>	Benzo(k)fluoranteno
<b>BPe</b>	Benzo(ghi)perileno
<b>CAPES</b>	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior
<b>CG-MS</b>	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
<b>Chry</b>	Criseno
<b>CIDASC</b>	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina
<b>CL</b>	Cromatografia líquida
<b>CONAB</b>	Companhia Nacional de Abastecimento
<b>COPs</b>	Contaminantes orgânicos persistentes
<b>dBAn</b>	Dibenzo(ah)antraceno
<b>DeAcy</b>	Dibenzo(e)acenaftileno
<b>DCM</b>	Dicolorometano
<b>DMS</b>	Diferença mínima significativa
<b>EFS</b>	Extração em fase sólida
<b>ELL</b>	Extração líquido-líquido
<b>EPA</b>	Agência de Proteção Ambiental americana
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>FBs</b>	Fumonisinás
<b>FL</b>	Fluoreno
<b>FLD</b>	Fluorescência
<b>FM</b>	Fase móvel
<b>FLUR</b>	Fluoranteno
<b>HPA</b>	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>IARC</b>	International Agency for Research on Cancer
<b>IcdP</b>	Indeno(1,2,3-cd)pireno
<b>IAL</b>	Instituto Adolfo Lutz
<b>ITAL</b>	Instituto de Tecnologia de Alimentos

<b>IUPAC</b>	International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>LC-FLD</b>	Cromatografia líquida com detector de fluorescência
<b>LC-DAD</b>	Cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos
<b>LC-UV</b>	Cromatografia líquida com detector de UV
<b>LMT</b>	Limite máximo tolerável
<b>LOD</b>	Limite de detecção
<b>LOQ</b>	Limite de quantificação
<b>MAX</b>	Máximo
<b>MIN</b>	Mínimo
<b>MM</b>	Massa Molecular
<b>NA</b>	Naftaleno
<b>PHEN</b>	Fenantreno
<b>PPM</b>	Partes por milhão
<b>PY</b>	Pireno
<b>UE</b>	União Europeia
<b>UR</b>	Umidade relativa

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>CAPITULO 1.....</b>	<b>25</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>27</b>
2.1 Soja.....	27
2.2. Processos de secagem.....	33
3.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos .....	36
3.2 Micotoxinas.....	55
3.2.1. Condições para o desenvolvimento de micotoxinas.....	56
3.2.2. Umidade relativa (UR) .....	57
3.2.1.1. Conteúdo de umidade do substrato .....	57
3.2.1.2. pH.....	58
3.2.1.3. Temperatura .....	58
3.2.1.4. Microambiente .....	58
3.2.2. Efeito sinérgico das micotoxinas.....	58
3.2.3. Prejuízos causados, alternativas para evitar a formação e destoxificação.....	59
3.2.4. Fumonisinias .....	60
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
<b>CAPITULO 2.....</b>	<b>77</b>
RESUMO .....	79
INTRODUÇÃO .....	79
MATERIAL E MÉTODOS .....	81
Material .....	81
Métodos.....	82
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	83
CONCLUSÃO .....	88
AGRADECIMENTOS.....	88
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	89
<b>CAPITULO 3.....</b>	<b>93</b>
RESUMO .....	95
INTRODUÇÃO .....	95
MATERIAIS E MÉTODOS .....	97
Materiais.....	97
Métodos.....	98
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	99
Características das amostras de soja e umidade .....	99

Presença de HPAs, tipos e níveis detectados .....	100
<b>CONCLUSÕES</b> .....	102
Agradecimento .....	103
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	108
<b>CAPITULO 4</b> .....	<b>111</b>
RESUMO .....	113
MATERIAIS E MÉTODOS .....	116
Materiais .....	116
Métodos .....	116
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	118
Agradecimento .....	121
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>131</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>133</b>
1.1. APÊNDICE A – Artigo de revisão publicado pela revista PUBVET .....	135
1.2. APÊNDICE B – Artigo publicado pela revista Food Additives & Contaminants: Part A .....	136
1.3. APÊNDICE C – Comprovante de período na Argentina – Projeto Mercosul .....	137
1.4. APÊNDICE D – Comprovante de apresentação de Palestra .....	138

## INTRODUÇÃO

A soja ganha destaque devido a terras férteis, extensas e clima propício para a agricultura, o Brasil é um dos principais produtores e fornecedores mundiais de alimentos. A agricultura brasileira enfrenta grandes desafios, como o atendimento à crescente demanda por alimentos e produtos agropecuários, em quantidade e qualidade. O grão que mais cresceu nas últimas três décadas foi a soja, que hoje representa o maior peso na balança comercial brasileira. Entretanto alguns contaminantes podem ser encontrados nesse grão, e são provenientes de diferentes fontes, como as sementes contaminadas por fungos, do solo, através de resíduos de herbicidas ou podem advir do período pós-colheita (período de armazenagem, processamento sofrido).

Um dos contaminantes já conhecido e amplamente estudado nas áreas de cereais, leguminosas, nozes e seus produtos, são as micotoxinas, que são contaminantes produzidos por fungos (principalmente pelas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*) e comumente encontrados em uma grande variedade de produtos alimentares. A contaminação dos alimentos com micotoxinas dá origem a problemas de várias classes: oferecendo risco direto à saúde humana quando são consumidos alimentos contaminados pelas mesmas, efeito cumulativo no organismo, perdas de produção agrícola. Entre as mais de 300 micotoxinas identificadas, estão as fumonisinas. As espécies produtoras são *F. verticillioides*, *F. moniliforme* e o *F. proliferatum*. As fumonisinas frequentemente isoladas são B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, sendo que a fumonisina B<sub>1</sub> é considerada a mais importante devido a sua maior toxicidade, tendo sido declaradas pela IARC como possíveis carcinogênicos para o homem (grupo 2B).

Outro contaminante que é pouco estudado em soja, mas merece destaque, são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que caracterizam-se por serem compostos amplamente distribuídos na natureza, são introduzidos no meio ambiente por diversas fontes antropogênicas ou naturais. A formação de HPAs em alimentos tem sido objetivo de preocupação nos últimos anos, pois está diretamente relacionada com a segurança alimentar. Os HPAs representam uma classe importante de agentes químicos carcinógenos que fazem parte da rotina do homem em função de poluição ambiental, exposição ocupacional e da alimentação. As principais fontes responsáveis pela contaminação de bebidas e alimentos são fontes naturais, poluição, alguns tipos de

processamento (secagem, torrefação e defumação) e materiais de embalagens.

A contaminação de rios, mares e florestas, bem como a atmosfera, pode alterar de forma irreparável o equilíbrio dos ecossistemas, colocando em risco a saúde humana. A ação deletéria dos HPAs sobre os organismos vivos pode ser exercida diretamente ou através de seus derivados, muitos deles ainda desconhecidos. Estudos comprovam a capacidade de alguns HPAs de atravessar a barreira placentária e induzir no embrião algumas reações adversas, consequentemente apresentando efeitos embriotóxicos. Muitos compostos aromáticos possuem testes carcinogênicos negativos, porém possuem características mutagênicas e/ou tóxicas confirmadas. Dentre os HPAs carcinogênicos destaca-se o benzo(a)pireno um potente carcinógeno que tem sido utilizado por diversos pesquisadores como indicador da presença desses compostos em alimentos.

Considerando a importância que a exportação de grãos possui na economia nacional e sua imensa colaboração na balança comercial, além da necessidade de obter produtos derivados de soja mais seguros; este trabalho propõe (a) estudar a formação de HPAs a diferentes temperaturas de secagem, bem como (b) sua contaminação em grãos de soja comercializados, tanto em nível de exportação quanto de comércio interno e (c) pesquisar a presença de fungos e a fumonisinas.



**CAPITULO 1**  
**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Soja

#### 2.1.1. Classificação botânica e origem

A semente de soja cultivada é nos dias de hoje comercialmente advinda de uma planta herbácea, incluída na classe das dicotiledôneas, ordem *Rosaceae*, família das *Leguminosae*, subfamília *Papilionoidae* e gênero *Glycine*, L. É uma planta de ciclo anual de 90 a 160 dias classificada em grupos de maturação, de grande variabilidade genética tanto no ciclo vegetativo (período compreendido da emergência da plântula até a abertura das primeiras flores) (Fig. 1), como no reprodutivo (período do início da floração até o fim do ciclo da cultura), sendo também influenciada pelo meio ambiente, é uma originária de clima subtropical, porém devido às modificações genéticas sofridas, pode ser cultivada atualmente em outras latitudes (CAVALETT, 2008; LIU, 1997; CISOJA, 2012).

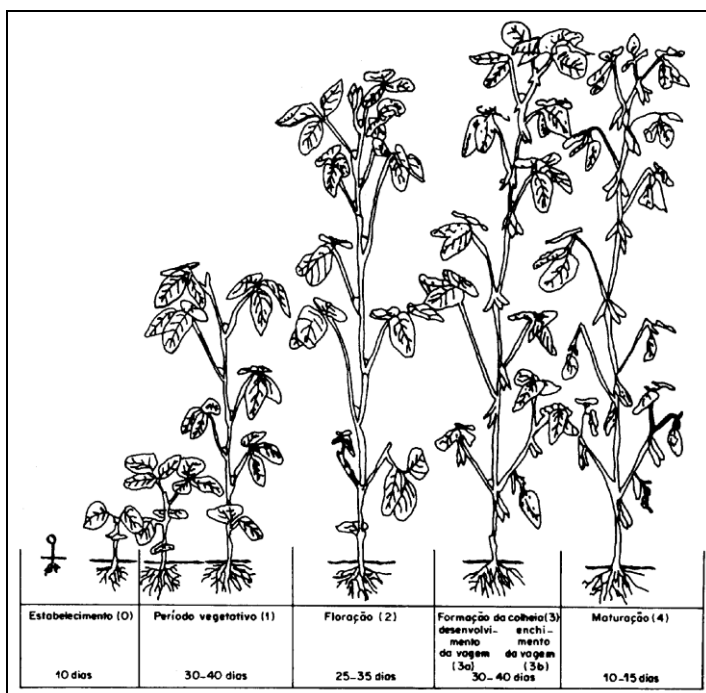
A soja é uma das culturas mais antigas, é originária do extremo Oriente, plantada pelo menos há cinco mil anos, e foi disseminada pelo mundo por intermédio dos viajantes ingleses e por imigrantes japoneses e chineses. Sua aparição no Brasil ocorreu no início do século XX, o cultivo do grão foi introduzido no estado do Rio Grande do Sul, mas seu impulso maior aconteceu em meados dos anos 70, em razão da grande quebra de safra da Rússia e a incapacidade dos Estados Unidos suprirem a demanda mundial. Nesta época o Brasil superou até a China, que era a segunda maior produtora mundial de soja, e até 1970, cerca de 80 % da produção nacional de soja concentrava-se na região Sul, mas seu cultivo avançou por todo cerrado e chegou até a região norte do país (SCHNEPF et al., 2001; ROCHA, 2009).

A soja é uma cultura produzida em um sistema de agricultura moderna, portanto baseado no uso de energia fóssil, insumos industriais, fertilizantes químicos, agrotóxicos, mecanização, pouca mão-de-obra, variedades geneticamente modificadas de alto potencial produtivo. O crescimento na produção de soja no Brasil vem sendo estimulado pelo aumento da demanda do grão como uma fonte boa e barata de proteína e calorias para produção de alimentos e ração animal (CORDEIRO, 2000; CAVALETT, 2008).

### **2.1.2. Composição nutricional**

A composição da soja é dependente de diversos fatores como o solo no qual ocorre o cultivo, clima, região, época de plantio e variedade. O grão é rico em proteínas 38 %, lipídeos 19 %, carboidratos 35 %, cinzas 5 %, em razão e sua composição química é um dos produtos mais valiosos para o setor agrícola, pois em comparação com outros cereais e leguminosas que possuem 8 a 15 % de proteína e por apresentar óleo (19 %) (KAGAWA, 1995; LIU, 1997). A soja é conhecida por ser um alimento de alta qualidade contendo elevada quantidade de proteína, seu conteúdo lipídico, aminoácidos essenciais e fitoquímicos que incluem isoflavonas, tocoferóis, saponinas e antocianinas (MALENCIC et al., 2007). Estes fitoquímicos presentes possuem diversas funções na planta, principalmente de defesa contra o ataque de predadores e patógenos e em humanos apresentam potencial para prevenir doenças crônicas como o câncer, osteoporose e alguns problemas do coração (WONG et al., 1998). As isoflavonas são encontradas na forma de flavonóides e em soja são conhecidas por suas propriedades antioxidantes e anticancerígenas (POHNDORF, 2012).

**Figura 1.** Ciclo vegetativo da soja (*Glycine max* L.) do estabelecimento a maturação.



Fonte: DOORENBOS; KASSAM (1994).

Os lipídeos presentes na soja são constituídos por triglicerídeos, fosfolipídeos, matéria insaponificável (esteróis, tocoferóis, hidrocarbonetos) e ácidos graxos livres. No grão estão presentes as vitaminas hidrossolúveis B1, B2, B3, ácido pantotênico e ácido fólico e representante das lipossolúveis A e E. Os minerais encontrados no grão são potássio, fosforo, magnésio, enxofre, cálcio, cloro e sódio (em ordem de expressividade na soja) e como menos expressivos sendo entre 0,01 e 144 ppm, silício, ferro, zinco, manganês, cobre, molibdênio, flúor, cromo, selênio, cobalto, cádmio, mercúrio, iodo, chumbo, arsênio (LIU, 1997; SILVA, 2007). Devido a composição da soja ser bastante significativa pelo teor balanceado de aminoácidos que a mesma apresenta, esta leguminosa vem sendo bastante explorada pelas indústrias, principalmente a alimentícia (SMITH., 1972), sendo principalmente destinada ao consumo humano e animal. Segundo

Moreira (1999) a fração proteica da soja tem sido usada para a alimentação humana, tanto como extrato hidrossolúvel (extrato de soja) quanto derivados proteicos (farinhas e isolados proteicos de soja). Além disso, existem a produção de subprodutos de soja pela indústria de alimentos como a margarina, o óleo de cozinha e agentes emulsificantes. Um exemplo da produção de subproduto da soja é o óleo de cozinha destinado ao preparo de alimentos de consumo humano obtido por meio de técnicas de extração (LIMA, 1999). Uma vez extraído o óleo, resíduos da etapa de extração podem ser destinados para o consumo animal, encontrando-se principalmente na forma de farelo para facilitar a preparação de rações. Por outro lado, resíduos de soja podem ser utilizados pela indústria farmacêutica e química, a exemplo do biodiesel (KAGAWA, 1995; LIMA, 1999).

### **2.1.3. Importância econômica**

Atualmente o agronegócio representa praticamente 40 % das exportações do país e as exportações relativas a soja representam 14 % das exportações nacional (CONAB, 2012).

Entre as grandes culturas de grãos, a soja foi a que mais expandiu seu crescimento em termos percentuais entre 1970 a 2002, tanto no país, quanto no âmbito mundial, o crescimento da produção global foi na ordem de 333 %, partindo de 43,7 milhões para 189,2 milhões de toneladas, enquanto as produções de culturas como trigo, arroz, milho, feijão, cevada e girassol cresceram, respectivamente, 79 %, 86 %, 140 %, 52 %, 19 % e 177 % (FAO, 2002).

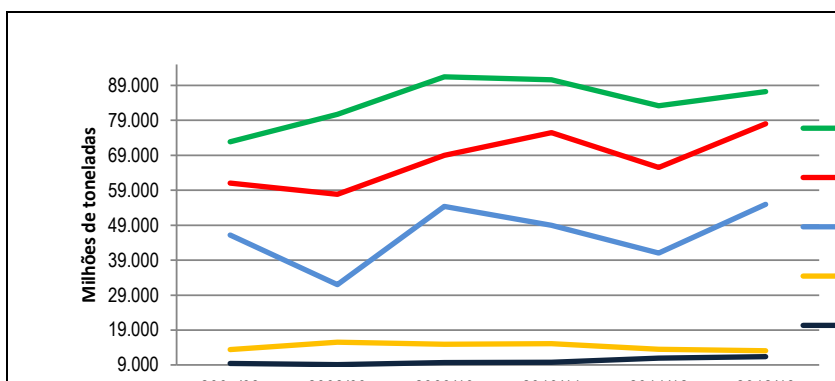
Atualmente os maiores produtores de soja no mundo são: Estados Unidos, Brasil, Argentina, China e a Índia (Fig. 2). Na safra 2010/2011 a produção mundial foi de 263,7 milhões de toneladas, plantadas em uma área equivalente a 103,5 milhões de hectares. O Brasil ficou com a segunda posição de maior produtor e exportador, esta mesma safra a produção brasileira foi de 75 milhões de toneladas, plantadas em uma área equivalente a 31 milhões de hectares. Neste contexto, o estado brasileiro com maior produtividade de soja foi o Mato Grosso (EMBRAPA, 2013).

Embora a safra mundial 2010/11 tenha sido recorde, a demanda mundial pela *commodity* principalmente aquela originada da China, garantiu a recuperação das cotações do grão durante o segundo semestre de 2010. Nesse cenário, entre outubro de 2010 e outubro de 2011, os preços da saca de soja, no Rio Grande do Sul, tiveram uma

evolução de 8,30 % (HIRAKURI, 2011). Somente a China é responsável por 64 % da demanda mundial (CONAB, 2012).

Segundo o Conab (2012) o consumo mundial de soja vem aumentando nos últimos anos, e este aumento está associado ao crescimento da população mundial e ao aumento do poder aquisitivo das pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento como a China, Índia e Brasil.

**Figura 2.** Produção de soja entre as safras de 2007 a 2012/13.



Fonte: CONAB (2012).

## 2.1.4. Qualidade do grão

Os contaminantes encontrados nos de grãos de soja podem ser provenientes de diferentes fontes, como as sementes contaminadas por fungos, do solo, através de resíduos de herbicidas ou podem advir do período pós-colheita (período de armazenagem, processamento sofrido) (BROOKER et al., 1992).

No cultivo de soja é comum realizar a dessecação, esta é uma operação de pré-colheita, com a finalidade de eliminar plantas daninhas e provocar a desfolha da cultura. A dessecação além de facilitar o trabalho das colheitadeiras, possibilita a antecipação da colheita, fato que ajuda a reduzir os possíveis prejuízos causados por fungos e insetos que incidem sobre a soja. Para realizar esta operação de pré-colheita faz-se uso de herbicidas (paraquat, diquat, agral entre outros) (SEBASTIÃO, 2011).

O glifosato [n-(fosfonometil)glicina], cuja fórmula molecular é  $C_3H_8NO_5P$  é um herbicida inibidor enzimático utilizado mundialmente

na agricultura, e amplamente difundido através do cultivo da soja. Foi descoberto em 1970 por um grupo de cientistas da Companhia Monsanto (EUA) liderados pelo Dr. J. Franz. O glifosato-isopropilamônio e o glifosato-sesquisódio são comercializados pela Monsanto Corporation, desde 1971, com o nome de Roundup®, sendo que esta companhia controla 80% do mercado mundial de comércio de glifosato. O glifosato funciona como herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente. O herbicida age em contato com ervas daninhas indesejadas e é rapidamente absorvido pelas folhas, interrompendo a biossíntese de ácidos aminoaromáticos essenciais. Assim, compromete a produção de clorofila e carotenóides, causando danos celulares irreversíveis. Entre os danos mais comumente observados, a ruptura parcial do cloroplasto e a perda de água do retículo endoplasmático rugoso são os mais importantes (KUKLINSKSOBRAL et al., 2001; SILVA et al., 2003; TONI et al., 2011). Atualmente, é comercializado em mais de cem países, sendo registrado para uso em mais de uma centena de culturas. A exposição pelo glifosato pode ser por diversas vias como dérmica, respiratória, digestiva e através das mucosas, enquanto a absorção pode ocorrer pelas vias dérmicas, digestiva e pelas mucosas, apesar de ser considerado moderadamente tóxico é conhecido por causar danos no sistema endócrino e responsável por contaminação ambiental (água, solo e alimentos), de animais e humana (RODRIGUES et al., 2005; GRANJA, 2011; SINITOX, 2012).

A maioria das doenças de importância econômica que ocorre na soja é causada por patógenos que são transmitidos pelas sementes (GOULART, 1997). A soja no campo é atacada por um grande número de doenças fúngicas que podem causar prejuízos tanto no rendimento quanto na qualidade das sementes. Os grãos podem ser infestados tanto durante o cultivo quanto no período pós-colheita (armazenamento). Os fungos do campo contaminam os grãos durante o cultivo, para isto necessitam de ambientes com umidade relativa superior a 80 %. Os fungos de armazenamento demandam menor quantidade de água, então estes se proliferam em maior intensidade na massa de grãos no período pós-colheita. De forma geral este microrganismo afeta a sanidade e qualidade dos grãos e desta forma também a comercialização (SILVA, 2005). Brooker et al. (1992) enfatizaram que a qualidade dos grãos é um parâmetro bastante relevante para comercialização e processamento, podendo afetar o valor do produto. As micotoxinas (toxinas produzidas por fungos toxigênicos) associadas a grãos é uma das principais causas de não conformidade em relação a segurança alimentar. Alguns gêneros de fungos podem produzir micotoxinas em grãos e produtos processados



de soja, tais como: a esterigmatocistina, ocratoxina A, zearalenona e aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>) (SASSAHARA et al., 2003). A ingestão de alimentos que contenham micotoxinas pode causar efeitos nocivos à saúde humana e animal como, por exemplo, as micotoxicoses ou mesmo enfermidades como o câncer (SCUSSEL et al., 2008).

Durante a pós-colheita, a maior parte dos grãos de cereais e leguminosas passa por algumas etapas como secagem, armazenagem até o processamento. Estas operações podem reduzir a qualidade dos grãos e comprometer sua posterior conservação. O conhecimento das características físicas e químicas dos grãos pode auxiliar a minimizar esses problemas, através de manejo adequado. O crescimento no consumo soja e seus subprodutos, juntamente com a exigência de qualidade pelo consumidor justifica a importância da realização de estudos sobre secagem e armazenagem de grãos, na busca da oferta de um produto de alto valor comercial, seguro para consumo e com suas características originais preservadas (LASSERAN, 1981; ELIAS, 2008; POHNDORF, 2012).

Um dos contaminantes que pode ser encontrado na soja e de grande importância toxicológica para os humanos são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos devido à poluição atmosférica, água contaminada, poluição do solo, aplicação de fertilizantes e herbicidas e ao processo de secagem dos grãos (fonte de geração e calor utilizada, presença adequada de gases, dimensionamento adequado de fornalha, tempo e temperatura de contato), sendo seu estudo em soja pouco explorado, porém de extrema importância e necessidade (CAMARGO et al., 2011; CAMARGO et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2007).

## **2.2. Processos de secagem**

### **2.2.1. Secagem de grãos**

Segundo Baudet et al. (1999) a secagem é um processo de extrema importância para o armazenamento de grãos, sendo também o processo comercial mais comumente utilizado para a preservação, pois propicia a redução do teor de água em níveis adequados, mantendo a qualidade fisiológica, química, uma boa aparência visual e também a qualidade nutricional inicial do grão. Silva (2005) enfatiza que o processo de secagem de grãos de produtos agrícolas tem como objetivo prevenir o desenvolvimento de fungos e bactérias, e assim evitar o

processo de respiração que provoca perda de peso, execução de reações bioquímicas que podem promover a auto-degeneração do grão, a produção de grãos ardidos e com a presença de micotoxinas.

Os grãos são produtos higroscópios podendo repassar ou receber vapor de água do ar que os circunda. Os produtos que são higroscópicos permitem com que sobre a sua superfície se forme uma camada delgada de ar que constitui um microclima. O teor de umidade e temperatura dos produtos controlam este microclima, o qual também possui propriedades, sendo uma delas a umidade relativa. É importante ressaltar que o ar que circunda o produto, também possui umidade relativa, estando esta relacionada à quantidade de vapor diluída no ar (SILVA, 2005).

O sentido e intensidade do fluxo de vapor de água entre os grãos e o ar são determinados de acordo com a diferença dos valores de umidade relativa do ar, do microclima sobre os grãos e do ar que circunda o grão. O sentido do fluxo de vapor ocorre sempre do ponto com maior valor de umidade relativa para o de menor, logo para que o grão possa ser seco a umidade relativa do ar do microclima sobre os grãos tem que ser maior que a umidade relativa do ar que circunda o grão (SILVA, 2005).

Para diminuição da umidade do grão de soja realiza-se a secagem destes grãos antes de estocá-los, como dito acima, no entanto segundo Nwokolo e Smartt (1995) deve-se ter cuidado pois a utilização de tratamentos térmicos muito severos causa danos em componentes benéficos, a exemplo a desnaturação que pode ocorrer com os componentes proteicos do grão.

Dentre os vários processos de preservação aplicados a alimentos, a secagem possui uma grande vantagem, por ser um método operacional de baixo custo, quando comparada com a refrigeração, irradiação, tratamentos químicos, entre outros (ROSSI e ROA, 1980).

A secagem pode ser natural ou artificial. A artificial possibilita uma rápida remoção parcial da umidade e evita alterações fisiológicas. Este tipo de secagem consiste, principalmente, na ventilação de ar que pode estar aquecido ou não envolto do produto. Por isso, o tipo artificial de secagem é largamente usado na indústria como um método para preservar as condições ideais dos grãos, o direcionando a um posterior processamento. No entanto, este tipo de secagem pode apresentar algumas desvantagens quando utilizada sob altas temperaturas, podendo causar danos irreversíveis nos grãos (MIRANDA et al., 1999). Atualmente, estudos tem ressaltado que falhas no processo de secagem provavelmente possibilitam a formação de compostos tóxicos e ou

carcinogênicos, como por exemplo, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

### 2.2.2. Tipos de secadores

Existe uma vasta gama de equipamentos de secagem, os quais servem para diferentes finalidades. O desenvolvimento desta variada gama de equipamentos é devido à diversidade de produtos e substâncias a serem secas (HUI et al., 2008).

Segundo Silva (2005) os secadores utilizados para grãos podem fazer uso de alta ou baixa temperatura, sendo classificados em dois grupos: secadores de alta temperatura e secadores de baixa temperatura. O grupo dos secadores de alta temperatura é subdividido em dois subgrupos de secadores: a) os que fazem uso de leito fixo; e b) os que utilizam fluxo contínuo, deste existem quatro tipos de secadores (Secador de fluxo cruzado, secador de fluxo concorrente, secador de fluxo contracorrente e o secador de fluxo misto).

- a) O secador de leito fixo é o mais simples. Este modelo caracteriza-se pela passagem forçada de ar através dos grãos que permanecem estáticos. A secagem no secador de leito fixo ocorre da base da camada de grãos para o topo desta, por isso não é muito eficaz.
- b) Os secadores de fluxo contínuo são mais eficazes que o de leito fixo porque os produtos não permanecem estáticos. A secagem de fluxo contínuo leva em consideração o fluxo de ar em relação ao fluxo do produto. Existem quatro grupos de secadores que utilizam esse tipo de secagem:
  - I. *Secadores de fluxo cruzado.* Esta metodologia de secagem é a mais utilizada em todo o mundo, por ser de fácil construção e operacionalização, além disso, em comparação aos outros grupos de secadores têm um baixo custo. A secagem ocorre de forma intermitente e pode possuir um local de armazenamento na parte superior, denominado câmara de repouso. Além disso, podem ser equipados com misturadores de grãos e mecanismos de reversão de ar.
  - II. *Secadores de fluxo concorrente.* Neste modelo de secador o ar e os grãos fluem no mesmo sentido, logo o ar mais quente encontra primeiro o grão com maior teor de umidade, e assim a alta taxa de evaporação causa rápido resfriamento desse ar. O fato de o ar encontrar primeiro o grão mais úmido possibilita o uso de temperaturas mais elevadas, o que já não é possível nos secadores

de fluxo cruzado. Os produtos secos com fluxo concorrente serão homogêneos quanto a temperatura e umidade, pois a temperatura do ar de secagem decresce de maneira contínua. Fato que contribui para se obter um produto final com maior qualidade (menores danos físicos).

- III. *Secadores de fluxo contracorrente*. Por esta técnica de secagem o ar aquecido é forçado a passar pela massa de grãos que vêm em sentido oposto ao fluxo de ar. A medida que o grão vai passando pela coluna de secagem a temperatura do mesmo vai aumentando gradualmente, atingindo a máxima temperatura no final da coluna de secagem.
- IV. *Secadores de fluxo misto*. Este modelo é uma espécie de mistura de concorrentes e contracorrentes que utilizam fluxos cruzados de ar para secar os grãos. Os fatores limitantes para o uso deste modelo são: o custo muito elevado e a necessidade de um sistema de controle de poluição de ar muito eficiente.

Além destes modelos de secadores existem os silos secadores que apresentam como vantagem o fato do grão depois de seco poder permanecer armazenado. A secagem nestes silos funciona da seguinte maneira: os grãos localizados na entrada do ar de secagem secam primeiro, podendo atingir a temperatura do ar de secagem, no entanto os grãos que estão localizados mais próximos a saída permanecem mais frios e com maior teor de umidade. Este fato gera um gradiente de umidade entre a entrada e a saída de ar, e assim para obter-se uma secagem homogênea é necessário o uso de agitação mecânica.

### 3.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

#### 3.1.1. Definição

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma família de moléculas diversificada de mais de cem compostos orgânicos, constituídas unicamente de carbono e hidrogênio, arrançados em dois ou mais anéis aromáticos condensados, cada anel contendo cinco ou seis átomos de carbono e podem apresentar ramificações constituídas em cadeias hidrocarbônicas abertas (GUILLÉN, 1994; MAZEAS, 2004).

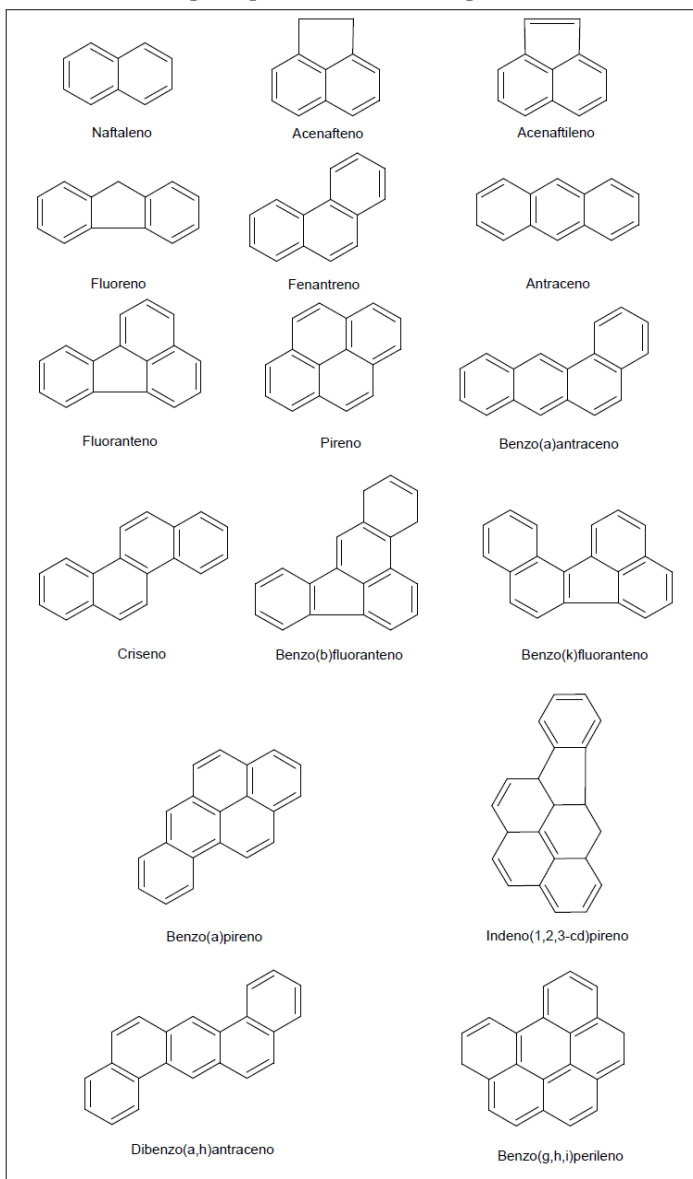
Os HPAs mais estudados são os compostos entre 2 e 6 anéis aromáticos, a Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) prioriza o monitoramento de 16 HPAs devido as suas características tóxicas, mutagênicas e/ou carcinogênicas: naftaleno, antraceno, pireno, criseno, fenantreno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(a)antraceno,

benzo(g,h,i)perileno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, indeno(1,2,3-cd)pireno, a Fig. 3 ilustra as formulas estruturais e a nomenclatura segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) dos 16 HPAs principais segundo a EPA.

Esses compostos podem ser divididos em duas classes: compostos com baixa massa molecular (MM), com MM menor que  $202 \text{ g mol}^{-1}$  (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, e antraceno) e com alta massa molecular, com MM igual ou maior que  $202 \text{ g mol}^{-1}$  (fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno, indeno(1,2,3-cd)pireno (VIEIRA, 2009).

### **3.1.2. Fontes produtoras de HPAs**

Os HPAs são compostos formados durante a combustão incompleta de material orgânico em elevadas temperaturas. Na combustão a matéria orgânica (constituída principalmente por carbono e hidrogênio) reage com o oxigênio produzindo dióxido de carbono e água. Porém se não houver oxigênio suficiente o processo de combustão é incompleto e parte do combustível da origem a outros subprodutos como monóxido de carbono e HPAs, esse processo é chamado de pirólise. Como consequencia das elevadas temperaturas se geram radicais livres que reagem entre si, formando compostos com estruturas cíclicas condensadas (SALGUEIRO, 2008).

**Figura 3.** Estrutura dos principais hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

As principais fontes de HPAs são identificadas por diversos autores, sendo divididas em dois grupos: origem natural e gerados por

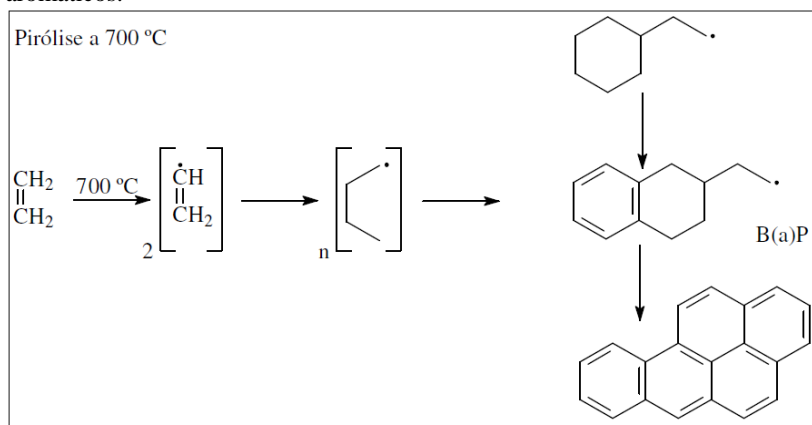
atividades antropogênicas. As fontes antropogênicas mais comuns são queima de carvão, gás natural, derivados de petróleo e madeira para geração de energia e aquecimento; combustão de derivados de petróleo para a movimentação de embarcações, veículos terrestres e aeronaves; atividades industriais que utilizem derivados de combustíveis fósseis como matéria-prima; queimadas intencionais em áreas de cobertura vegetal; queima de plástico; efluentes industriais e esgotos urbanos; drenagem fluvial; produção, transporte, estocagem e refino de petróleo; derrames acidentais de óleo envolvendo operações de abastecimento e lavagem de tanques de navios petroleiros em zonas portuárias; processos de defumação e secagem direta com madeira; fumaça de cigarro, queima de material biossintético (biomassa) (PAVEI, 2007). E as principais fontes de geração natural são queimadas de florestas; atividades vulcânicas; síntese por bactérias, fungos e plantas; decomposição de material biológico. A composição e a complexidade das misturas geradas dependem da fonte emissora, pois estão relacionadas com as condições de reação, como: temperatura, umidade relativa, disponibilidade de oxigênio, presença ou ausência de chama e eficiência da combustão (SAMANTA et al., 2002; WEY et al., 2006; BORGES, 2010).

O esquema de reação para a formação dos HPAs envolve a polimerização via radicais livres, em várias etapas, até a formação de anéis aromáticos condensados (Fig. 4). O mecanismo de formação dos HPAs ainda não está totalmente esclarecido, porém é descrito que a formação se dê por dois processos distintos de reação: a pirólise e a pirossíntese. Em temperaturas elevadas (300 a 800°C) e em concentrações de oxigênio baixas, compostos orgânicos de elevada massa molecular são fracionados parcialmente em moléculas menores, com dois ou três anéis aromáticos e alguns radicais livres, processo denominado de pirólise. Os HPAs e os radicais livres gerados durante a pirólise podem se reorganizar e dar origem a moléculas maiores e mais estáveis, com quatro, cinco ou seis anéis aromáticos (pirossíntese) (WILLIAMS e HORNE, 1995; MCGRATH; CHAN e HAJALIGOL, 2003).

A formação dos HPAs também pode ocorrer em temperaturas mais baixas em torno de 100 - 150°C, mediante um tempo maior de aquecimento, e dando origem a hidrocarbonetos alquilados. A formação dos HPAs é favorecida principalmente em temperaturas entre 400 a 800°C, porém observa-se que conforme a temperatura forma-se diferentes HPAs, quando a temperatura varia entre 400 - 500°C existe uma maior tendência da formação de hidrocarbonetos com baixa massa

molar ( $128\text{--}202\text{ g mol}^{-1}$ ), como naftaleno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluorantreno e pireno, em temperaturas iguais ou superiores a  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  observa-se a formação de hidrocarbonetos com massa molar entre  $228\text{--}252\text{ g mol}^{-1}$ , como criseno, benzo(a)antraceno e benzo(a)pireno e os HPAs com massa molar acima de 278 como indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno também são produzidos geralmente em temperaturas superiores a  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  (WILLIAMS e HORNE, 1995; MCGRATH; CHAN e HAJALIGOL, 2003).

**Figura 4.** Esquema representativo de formação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.



Fonte: LOPES; ANDRADES (1996).

Os compostos que dão origem aos HPAs, geralmente, são metano, outros hidrocarbonetos, carboidratos, ligninas (presente nas madeiras) e peptídeos, porém compostos insaturados e estruturas cíclicas podem contribuir para sua formação (EVANGELISTA, 2000). Muitos dos HPAs fazem parte de uma classe de poluentes orgânicos, persistentes, compostos potencialmente tóxicos, que têm como principais características a alta hidrofobicidade, baixa reatividade no meio ambiente e grande tendência de acumular nos tecidos dos organismos vivos (SCHWARZENBACH; GSCHWEND e IMBODEN, 1991). Os HPAs podem ser considerados como um dos principais agentes cancerígenos, pelo fato de se encontrarem amplamente distribuídos no meio ambiente, sendo que o corpo humano interage com tais compostos via inalação, ingestão, ou absorção cutânea (TROCHE, 2003; VIEIRA, 2009).



Os alimentos provenientes de solos contaminados são fonte de contaminação, demonstrando que HPAs podem se tornar biodisponíveis e serem transferidos ao longo da cadeia alimentar (PARRISH et al., 2006). A contaminação de alimentos por essas substâncias também pode ser decorrente do uso de água contaminada e da sedimentação sobre grãos e, em maior escala, de alguns processos de industrialização tais como defumação, secagem, torrefação, cozimento a altas temperaturas e migração de compostos da embalagem para o alimento (CAMARGO et al., 2006; BORGES, 2010).

### **3.1.2.1. Contaminação de alimentos de origem vegetal por HPAs**

A contaminação dos alimentos pode ocorrer tanto na origem como durante sua manipulação e/ou processamento: utilização e substâncias derivadas do petróleo na tecnologia alimentar, defumação (tradicional através de aromas de fumaça) e particularmente durante os tratamentos térmicos severos a que se submetem os alimentos como secagem, torrefação, desidratação, etc. (HARVEY, 1997).

A contaminação de alimentos a partir de HPAs presentes no meio ambiente depende das propriedades físicas e químicas, tais como solubilidade em água, capacidade de se ligar a matéria orgânica, volatilidade, reatividade química ou capacidade de degradação. A maior parte dos HPAs atmosféricos com mais de cinco anéis aromáticos são transportados ligados a matéria articulada, em contrapartida os HPAs com dois ou três anéis por serem mais voláteis, se encontram majoritariamente em fase de vapor. HPAs com quatro anéis encontram-se em uma posição intermediária. Quando esses compostos se depositam na superfície terrestre, contaminam os solos, recursos hídricos, cultivos agrícolas, etc., desta forma incorporando-se a cadeia alimentar. A deposição atmosférica é considerada a principal fonte de contaminação dos vegetais por HPAs, este fenômeno é mais importante em zonas industriais e ao longo de vias rodoviárias. Outra possível via de contaminação é através do sistema radicular por transferência de HPAs desde o solo ou fertilizantes contaminados (SALGUEIRO, 2008).

### **3.1.2.2. Contaminação de alimentos na manipulação e processamento**

As três maiores fontes responsáveis pela contaminação de HPAs em alimentos industrializados: utilização de substâncias derivadas do petróleo, defumação e os tratamentos térmicos severos. Na

tecnologia alimentar as substâncias derivadas do petróleo (parafinas e óleos minerais) podem estar contaminadas com HPAs, estes se utilizam com diversos fins, como lubrificação de peças mecânicas e revestimento interno de sistemas de embalagem. O processo de defumação, especialmente o tradicional, constitui fonte importante de contaminação. E a exposição dos alimentos a elevadas temperaturas também constitui fonte de contaminação, os HPAs podem formar-se durante a preparação doméstica ou na elaboração industrial dos alimentos, em processos como secagem, cozimento ou atomização.

### 3.1.3. Propriedades físicas e químicas

Os HPAs fazem parte de um grupo denominado de contaminantes orgânicos persistentes (COPs), são denominado assim por se tratarem compostos que apresentam cinco características: (a) serem tóxico, (b) persistentes, (c) bioacumuláveis, (d) serem transportado através do ar e transportados por grandes distâncias e (e) causarem efeitos nocivos a saúde e ao meio ambiente tanto próximo a fonte emissora como longe da mesma (CORDEIRO, 2003).

As propriedades físico-químicas dos HPAs são determinadas principalmente por suas estruturas de duplas ligações conjugadas, que variam devido ao número de anéis e de acordo com a massa molecular, com exceção do naftaleno e seus compostos alquilados que são relativamente solúveis em água, em geral a solubilidade diminui com o aumento do peso molecular. O coeficiente de partição com carbono ( $K_{oc}$ ) determina a tendência dos HPAs de associarem-se com o material particulado através de processos de adsorção. Os coeficientes de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) são relativamente elevados e representam sua afinidade por fases orgânicas (lipofílicas), o que implica um potencial de absorção sobre matérias particuladas em suspensão no ar e na água e um potencial de bioacumulação em organismos e que podem ser absorvidos através de tecidos biológicos com a pele, por exemplo. Esse caráter lipofílico aumenta com o aumento da massa molecular e são compostos fotosensíveis (processo de fotoxidação), apresentam altos pontos de fusão e ebulição e baixa pressão de vapor (PINTO, 2008; CORDEIRO, 2003; CIERIRA, 2009). As propriedades podem ser observadas na Tabela 1.

A fluorescência dos HPAs está relacionada com a presença de orbitais  $\pi$  de alta energia e orbitais  $\pi^*$  de energia inferior. A transação

eletrônica entre ambos tipos de orbitais é a que origina a cor e os espectros característicos de UV e fluorescência (CORDEIRO, 2003).

**Tabela 1.** Propriedades físico-químicas dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPAs <sup>a</sup>	MM <sup>b</sup> (g/mol)	PF <sup>c</sup> (°C)	PE <sup>d</sup> (°C)	PV <sup>e</sup> (Pa)	S <sup>f</sup> (mg/L)	K <sub>ow</sub> <sup>g</sup>	K <sub>oc</sub> <sup>h</sup>
NA <sup>1</sup>	128	81	217	10,4	30	3,37	3,1
ACY <sup>2</sup>	152	93	265- 275	8,9x10 <sup>-1</sup>	3,93	4,1	1,4
PHEN <sup>3</sup>	166	116	295	8,0x10 <sup>-2</sup>	1,98	4,2	3,9
AN <sup>4</sup>	178	216	342	8,0x10 <sup>-4</sup>	7,0x10 <sup>-2</sup>	4,5	4,1
PHEN <sup>5</sup>	178	100	340	1,6x10 <sup>-2</sup>	1,29	4,6	4,1
PY <sup>6</sup>	202	109	375	1,2x10 <sup>-3</sup>	2,6x10 <sup>-1</sup>	5,2	4,6
FLUR <sup>7</sup>	202	150	393	6,0x10 <sup>-4</sup>	1,4x10 <sup>-1</sup>	5,2	4,6
BaA <sup>8</sup>	228	161	400	2,8x10 <sup>-5</sup>	1,4x10 <sup>-2</sup>	5,6	5,3
Chry <sup>9</sup>	228	254	448	8,4x10 <sup>-5</sup>	2,0x10 <sup>-3</sup>	5,9	5,3
BaP <sup>10</sup>	252	178	496	7,3x10 <sup>-7</sup>	3,8x10 <sup>-3</sup>	6,5	6,7
BeAcy <sup>11</sup>	252	168	481	6,7x10 <sup>-5</sup>	1,2x10 <sup>-3</sup>	6,1	5,7
BkF <sup>12</sup>	252	216	480	1,3x10 <sup>-8</sup>	5,5x10 <sup>-4</sup>	6,8	5,7
IcdP <sup>13</sup>	276	164	536	1,3x10 <sup>-8</sup>	6,2x10 <sup>-2</sup>	6,6	6,2
dBAn <sup>14</sup>	278	267	524	1,3x10 <sup>-8</sup>	5,0x10 <sup>-3</sup>	6,5	6,5

<sup>a</sup> hidrocarbonetos policíclicos aromáticos <sup>b</sup> massa molar <sup>c</sup> ponto de fusão <sup>d</sup> ponto de ebulição <sup>e</sup> pressão de vapor a 25°C <sup>f</sup> solubilidade em água a 25°C <sup>g</sup> coeficiente de partição octnol-água <sup>h</sup> Coeficiente de partição com o carbono <sup>1</sup> naftaeno <sup>2</sup> acenaftileno <sup>3</sup> fuoreno <sup>4</sup> antraceno <sup>5</sup> fenantreno <sup>6</sup> pireno <sup>7</sup> fluorateno <sup>8</sup> benzo(a)antraceno <sup>9</sup> criseno <sup>10</sup> benzo(a)pireno <sup>11</sup> benzo(e)acenaftileno <sup>12</sup> benzo(k)fluorateno <sup>13</sup> indedo(1,2,3-cd)pireno <sup>14</sup> dibenzo(a,h)antraceno

Fonte: BRITO (2009).

### 3.1.4. Toxicidade

A exposição humana (e de outros animais) aos HPAs ocorre por diferentes vias, as mais importantes são a inalação de ar poluído e a ingestão de alimentos ou água contaminada (NEVES, 2006). As plantas contaminadas podem ser consumidas pelo ser humano ou pelo gado que posteriormente serve como alimento para o homem (SALGUEIRO, 2008). Devido às propriedades físico-químicas desses compostos e da ampla distribuição ambiental, o risco de contaminação humana por essas substâncias é significativo. Podem ser absorvidos pela pele, por ingestão ou por inalação, e possuem rápida distribuição através do organismo. Quando presentes nos alimentos os HPAs atravessam a membrana intestinal e atingem os hepatócitos ainda em grande concentração (BRAUN et al., 2004; BORGES, 2009).

Os HPAs de baixo peso molecular (2 ou 3 anéis benzênicos), não são classificados como carcinogênicos ao homem, porém apresentam toxicidade aguda e efeitos adversos ao sistema imunológico, desenvolvimento fetal e alterações na regulação endócrina; já compostos com alto peso molecular (mais de 4 anéis benzênicos) são em sua maioria considerados carcinogênicos aos seres humanos, e em casos como o benzo(a)pireno possuem efeito mutagênico ou teratogênicos para uma variedade de organismos, como, invertebrados, peixes, anfíbios, aves, mamíferos e o homem (UPSHALL et al., 1992; HEATH et al., 1993; DIETERT e PIEPEMBRINK, 2006; RICE et al., 2000).

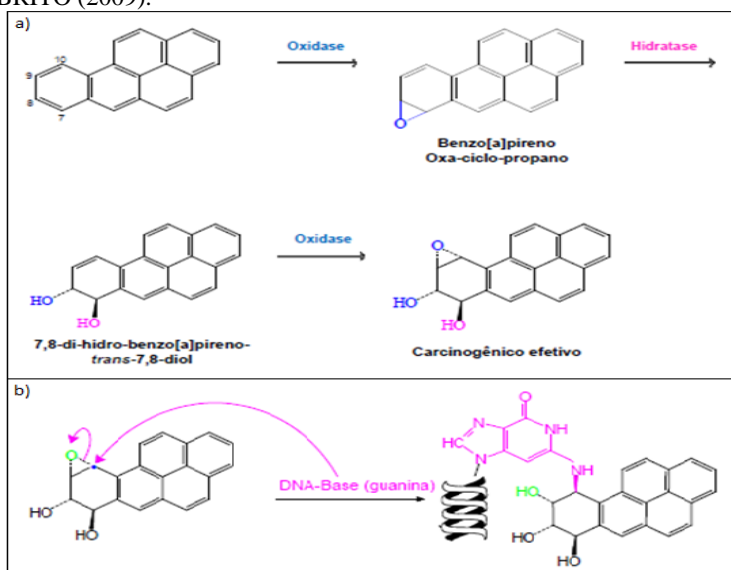
Estes compostos não são propriamente mutagênicos, eles são metabolicamente ativados após sua absorção pelas células, existem vários mecanismos propostos para a ativação enzimática, um deles é através de oxidação enzimática, determinada pelo citocromo P-450. A proteína que executa as reações de epoxidação nos HPAs, no caso do benzo(a)pireno, forma um composto denominado benzo(a)pireno-diolepóxido (oxa-ciclo-propano), esse diolepóxido é uma molécula reativa, bem como os epóxidos, sendo capaz de reagir covalentemente com as bases nucleofílicas do DNA, desta maneira causam transformações no material genético, sendo base do processo de carcinogênese. Alguns experimentos demonstram que a atuação do carcinogênico efetivo derive do ataque nucleofílico do nitrogênio do grupo amina da guanina (base do DNA) pelo oxa-ciclo-propano, dessa forma com a alteração da molécula de guanina afeta a estrutura da dupla hélice do DNA comprometendo a replicação da molécula e tornando-a defeituosa (Fig. 5).

### **3.1.5. Ocorrência em alimentos**

Os HPAs podem ser encontrados em uma gama muito variada de alimentos, inclusive em alimentos base para a nutrição do ser humano, incluindo óleos vegetais (ANTONIOLLI et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2007; CAMARGO et al., 2012; CAMARGO et al., 2011; CAMARGO et al., 2012; MARTÍ-CID et al., 2008; CARUSO e ALABURDA, 2008; YUSTY e DAVINA 2005; FALCÓ et al., 2003; MARTORELL et al., 2010), arroz (TAO et al., 2006; JIAO et al., 2007; SU e ZHU, 2008; KORENAGA et al., 2001 ; MARTÍ-CID et al., 2008; CAMARGO e TOLEDO, 2002; GAO et al., 2010; DING et al., 2012; YANG et al., 2006), vegetais (VOUTSA e SAMARA, 1998; TAO et al., 2004; LAI et al., 2008; GAO et al., 2008; MARTÍ-CID et al., 2008; KIPOPOULOU e SAMARA, 1999; MO et al., 2009; FALCÓ et al.,

2003; MARTORELL et al., 2010), água (BIANCHI et al., 2008; GAO et al., 2008; MIRSADEGHI et al., 2011; ZHANG et al., 2012), café (TFOUNI et al., 2013; SERRATE et al., 2010; CAMARGO e TOLEDO, 2002; GARCÍA-FALCÓN et al., 2005), chá (CAMARGO e TOLEDO, 2002; LI et al., 2011; LIN e ZHU, 2004; LIN et al., 2005; LIN et al., 2006; MARTENA et al., 2011), bebidas alcoólicas (CARUSO e ALABURDA, 2008; DÓREA et al., 2008; GALINARO, 2010; FRANCO et al., 2009), leite e produtos lácteos (CAMARGO e TOLEDO, 2002; MARTÍ-CID et al., 2008; FALCÓ et al., 2003; NACCARI et al., 2011; MARTORELL et al., 2010; ZHANG et al., 2012), pão (CAMARGO e TOLEDO, 2002; AL-RASHDAN et al., 2010; MARTÍ-CID et al., 2008; MARTORELL et al., 2010), frutas (MARTÍ-CID et al., 2008; FALCÓ et al., 2003; MARTORELL et al., 2010), peixes e frutos do mar (MARTÍ-CID et al., 2008; FALCÓ et al., 2003; MARTORELL et al., 2010), carnes (MARTÍ-CID et al., 2008; DOST e IDELI, 2012; FARHADIAN et al., 2011; FARHADIAN et al., 2012; LORENZO et al., 2011; FALCÓ et al., 2003; MARTORELL et al., 2010), produtos defumados (CAMARGO e TOLEDO, 2002).

**Figura 5.** Representação esquemática da (a) conversão enzimática do benzo(a)pireno e (b) reação dos HPAs no organismo humano. Fonte: Adaptado de BRITO (2009).



Quanto aos cereais e leguminosas somente poucos trabalhos tem sido relatados em milho (PARAÍBA et al., 2008), arroz e feijão (FALCÓ et al., 2003) lentilha, ervilha, grão de bico e feijão branco (MARTORELL et al., 2010), na Tabela 2 podem ser observados os níveis de contaminação conforme as referências citadas para cereais e leguminosas.

### **3.1.6. Legislação**

A legislação existente para HPAs na área de alimentos é bastante limitada, existindo uma legislação mais elaborada na área de proteção ambiental. Em casos de existência de legislação os limites toleráveis são estabelecido somente para um dos HPAs, o BaP, e em poucos grupos de alimentos, porém existem limitações consideráveis devido a geralmente esses contaminantes serem encontrados em grupos.

No Brasil existe somente legislação para água determinada pela Resolução RDC nº 274/2005 (BRASIL, 2005) que estabelece o limite de 0,7 µg/L e para alimentos que foram adicionados aromas de fumaça conforme a Resolução RDC nº 2/2007 limitando em menos que 0,03 ppb (BRASIL, 2007).

As normas mais rígidas são as da Comunidade Europeia, determinadas pelo Regulamento (UE) Nº 835/2011 de 19 de Agosto de 2011, que descrimina limites para a soma de alguns HPAs como benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e criseno (Tab. 3).

### **3.1.7. Metodologias de análise para os principais HPAs**

Entres as principais metodologias analíticas para a quantificação de HPAs estão os métodos cromatográficos e espectroscópicos. Estes compostos podem ser determinados através da avaliação dos mesmos como misturas ou individualmente, e o monitoramento biológico pode ocorrer por meio da determinação de seus metabolitos em fluidos biológicos ou através de um efeito bioquímico resultante de sua presença no organismo (NETTO et al., 2000; CARUSO e ALABUDA, 2008).

A Tabela 4 apresenta métodos empregados para HPAs, incluindo detalhes de extração e limpeza, bem como de detecção e quantificação por cromatografia para diversos alimentos. Embora sejam citados na literatura métodos por cromatografia gasosa (CAMARGO e TOLEDO, 2002; KOBAYASHI et al., 2008), a maioria deles é por

cromatografia líquida (CL) com detecção por fluorescência (FLD) (BETTIN e FRANCO, 2001; NIEVA-CANO, et al., 2001; KISWKAWA et al., 2003; GARCIA-FALCON, et al., 2005; CAMRGO et al., 2006 e CAMRGO et al., 2012, FARHADIAN et al., 2012). Quanto aos compostos identificados por LC-FLD, os principais são benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e criseno, utilizando fase móvel contendo acetonitrila e água, em diferente proporções, embora seja utilizado também o metanol como solvente em diferentes proporções. Alguns trabalhos reportam a utilização de outros detectores para análise de HPAs como, por exemplo, PUMPIN e TOLEDO (1996) por LC-DAD e por LC-UV (LIN et al., 2000).

**Tabela 2.** Legislação da Comunidade Europeia para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diversos alimentos

Gêneros Alimentícios	Teores máximos (µg/kg)	
	BaP	Σ BaP, BaA, BbF e Chry <sup>(1)</sup>
Óleos e gorduras (com exceção da manteiga de cacau e do óleo de coco) para consumo humano direto ou à utilização como ingrediente	2,0	10,0
Grãos de cacau e produtos derivados	5,0 µg/kg de gordura	30,0 µg/kg de gordura
Óleo de coco destinado ao consumo humano direto ou como ingrediente	2,0	20,0
Carne defumada e produtos à base de carne defumada	2,0	12,0
Peixe defumado (parte comestível) e produtos da pesca defumados. Crustáceos defumados (parte comestível dos apêndices e do abdômen). Caranguejos e crustáceos similares ( <i>Brachyura</i> e <i>Anomura</i> ) defumados (parte comestível dos apêndices)	2,0	12,0
Espadilhas defumadas e defumadas em lata <sup>(2)</sup> ( <i>sprattus sprattus</i> ); moluscos bivalves (frescos refrigerados ou congelados); carne tratada termicamente e produtos à base dessa carne <sup>(3)</sup>	5,0	30,0
Moluscos bivalves (defumados)	6,0	35,0
Alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebês destinados a lactentes e crianças jovens	1,0	1,0
Fórmulas para lactentes e fórmulas de transição, incluindo leite para bebês e leite de transição.	1,0	1,0
Alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, especificamente destinados a lactentes	1,0	1,0

<sup>(1)</sup> As concentrações para os limites inferiores são calculadas com base no pressuposto de que todos os valores das quatro substâncias abaixo do limite de quantificação são zero.

<sup>(2)</sup> Para os produtos em lata, a análise será realizada em todo o conteúdo da lata.

<sup>(3)</sup> Carne e produtos à base de carne que foram submetidos a um tratamento térmico que dê potencialmente origem à formação de HPA, ou seja, apenas grelhados na grelha ou em churrasqueira.  
Fonte: Comunidade Europeia (2001).



Tabela 3. Metodologias utilizadas para quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diferentes alimentos

HPAs	Alimento	Quantidade de amostra	Extração	Limpeza	Quantificação	Recuperação (%)	LOD (min/max)/LOQ (min/max) µg/Kg	Referência
CROMATOGRAFIA GASOSA								
Fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(e)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(ab)antraceno e benzo(hg)pirileno.	Produtos lacteos (leite, queijo e iogurte), Cereais, panificados, leguminosas, açúcares, produtos cárneos e pizza	25 g	Saponificação com KOH metanólico; ELL com metanol:agua (9:1) e ciclohexano.	Limpeza realizada com coluna de vidro (5g de sílica-gel) eluição com 85 mL de ciclohexano; separação por HPLC. FM: isocrática ACN:H <sub>2</sub> O (75:25, v/v), vazão 1,0 mL/min.	Quantificação por CG-MS Gás de arraste: Hélio, vazão 0,7mL/min.	74-96	LOD 0,07-1,29	CAMARGO & TOLEDO, 2002
Benzo(a)antraceno, Criseno, Benzo(j)fluoranteno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(a)pireno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(b)fluoranteno, Dibenzo(ab)antraceno, Benzo(ghi)perileno, Dibenzo(al)pireno, Dibenzo(ae)pireno, 5metil-criseno, Dibenzo(a)pireno e indeno(1,2,3cd)pireno	Milho e solo	5 g	Sonicação por 30 min. com DCM; filtração; retira o excesso de umidade com celite; filtração com membrana PTFE; concentra.	Coluna de vidro empacotada com sílica (100-200 mesh), eluição com hexano; ao extrato eluído é adicionado diclorometano; concentra.	Quantificação por CG-MS	40-100	LOD 0,0005-0,004	KOBAYASHI et al., 2008
CROMATOGRAFIA LIQUIDA								

HPAs	Alimento	Quantidade de amostra	Extração	Limpeza	Quantificação	Recuperação (%)	LOD (min/max)/LOQ (min/max) µg/Kg	Referência
Benzo(a)antraceno, Criseno, Benzo(j)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Dibenzo(ab)antraceno, Benzo(ghi)perileno, Dibenzo(a)pireno, Dibenzo(a)pireno, 5metil-criseno, Dibenzo(a)pireno e indeno(1,2,3cd)pireno.	Óleo de soja	0,5 g	Dissolve amostra com hexano; ELL com dimetilformamida:água (9:1).	EFS AccuBond com 10 mL de hexano; filtração.	Quantificação por HPLC-FLD FM: gradiente com ACN (A) e H <sub>2</sub> O (B) t <sub>0min</sub> 70% A, t <sub>30 min</sub> 75% A, t <sub>35 min</sub> 100% A, e mantem condição isocrática por 20 min, fluxo 1 mL/min.	70- 120	LOD 0,11-1,01 LOQ 0,20-1,69	CAMARGO et al., 2012
Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno e Dibenzo(a,b)antraceno.	Pó de guaraná	20 g	Saponificação com KOH metanolico e ciclohexano; filtração com funil com funil de Buchner; ELL com água.	Limpeza realizada com coluna de vidro (5g de sílica-gel) eluição com 85 mL de ciclohexano.	Quantificação HPLC-FLD FM: ACN:H <sub>2</sub> O (7/5:2/5, v/v), fluxo 1,0 mL/min 290 nm (excitação) e 430 nm (emissão)	78-99	LOD 0,04-0,21	CAMARGO et al., 2006
Naftaleno, acenafталeno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, 1,2- benzo(e)pireno, criseno, benzo(e)pireno, 2,3-	Aguardente	12 mL		EFS (C18) eluição com 2 mL de isopropanol e 2 mL de acetato de etila.	Quantificação por HPLC-FLD	82-101	LOD 0,001-0,10 LOQ 0,01-1,00	BE'TTIN & FRANCO, 2005

HPAs	Alimento	Quantidade de amostra	Extração	Limpeza	Quantificação	Recuperação (%)	LOD (min/max)/LOQ (min/max) µg/Kg	Referência
benzo(a)antraceno, 1,2- benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, 9,10-dimetil benzo(a) antraceno, benzo(a)pireno e benzo(ghi)perileno.								
Acenafteño, acenafteño, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, fenantreno e pireno.	Folhas de chá e infusão de chá	Folhas: 6 g e Infusão: 20 g em 200 mL de água	Folhas e Infusão: Extração por ultrassom por 30 min com diclorometano (DCM).	Folhas: purificação em coluna de sílica eluição com 10 mL de hexano:DCM (1:1). Infusão: Filtração por coluna de sulfato de sódio anidro, lavar com 10 mL de hexano:DCM (1:1); evapora e ressuspende em hexano:coluna de sílica eluição com 10 mL de hexano:DCM (1:1).	Folhas e infusão: Quantificação por HPLC-UV	50-85	LOQ em chá 0,79-4,93 LOD em infusão 0,66-4,11	LIN et al., 2005

HPAs	Alimento	Quantidade de amostra	Extração	Limpeza	Quantificação	Recuperação (%)	LOD (min/max)/LOQ (min/max) µg/Kg	Referência
Acenafeno, acenafileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(g,h)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, fenantreno e pireno.	Pão torrado, pure de batata e batata	0,5 g	Extração por ultrassom por 8 min. com 3 mL de éter etílico:DCM (1:1); evaporação de 0,5 mL e ressuspensão em ACN.	Centrifugação a 300 rpm por 15 min.; 0,5 mL e ressuspensão em ACN.	Quantificação por HPLC-FLD	68-89	LOQ 0,07	NIEVA-CANO et al., 2001
Benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(g,h)perileno, indeno(1,2,3-cd)pireno, benzo(a)antraceno, dibenzo(a,h)antraceno.	Café instantâneo	0,5 g	Disolver a amostra em 15 mL de hexano; filtração por membrana de nylon.	Limpeza com cartucho de sílica e eluição com 7 mL de hexano; evaporar; ressuspender em ACN.	Quantificação por HPLC-FLD FM: gradiente, ACN:H <sub>2</sub> O (80:20) por 32 min, ACN:H <sub>2</sub> O (97:03) por 3 min e após mantem 100% ACN por 2 min., vazão 1 mL/min. Por 16 min (274/414 nm), por 6 min. (300/446 nm), por 9 min	87-103	LOD 0,01-0,05 LOQ 0,04-0,2	GARCIA-FALCON et al., 2005

HPAs	Alimento	Quantidade de amostra	Extração	Limpeza	Quantificação	Recuperação (%)	LOD (min/max)/LOQ (min/max) µg/Kg	Referência
Fluoreno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno.	Carne grelhada	5 g	Amostra é homogeneizada por 3-6 h com 15 mL de NaOH (1 M); mistura com 17 g de terra diatomacea.	EFS em coluna de ácido propilsulfônico com eluição por DCM 60 mL; evaporar; redissolver em 1 mL de hexano; coluna de sílica-gel (10 g) com eluição por hexano:DCM (60:40) 60 mL.; o resíduo é ressuspendido em ACN (250 µL).	(296/406 nm), por 6 min (300/ 470 nm). Quantificação por HPLC-FLD FM: 84% ACN e 16% água deionizada, fluxo 1 mL/min.	75-102	LOD 0,01-0,03 LOQ 0k04-0,10	FARHADIAN, et al., 2012
Fenantreno, atraceno, fluoranteno, pireno, 1,2- benzo(e)pireno, criseno, benzo(e)pireno, 2,3- benzo(a)antraceno, 1,2- benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, 9,10-dimetil benzo(a) antraceno,	Leite	2 mL	Saponificação com 4 mL (0,4 M) NaOH em EtOH:água (9:1) a 60 °C por 30 min.	EL com 2 mL hexano por duas vezes; evaporar; ressuspendir em 100 µl ACN.	Quantificação por HPLC-FLD FM: gradiente com MeOH: H <sub>2</sub> O (8:2) (A) e ACN (B) t <sub>0min</sub> 10% B, t <sub>4-7 min</sub> 10-95% B, t <sub>7-30 min</sub> 95% B, 0-8,4 min	90-100	LOD 0,0013-0,035	KISHIKAWA, et al., 2003



### 3.2 Micotoxinas

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos toxigênicos, são formadas no final da fase exponencial e/ou início da fase estacionária da curva de crescimento microbiano e não possuem significância aparente para o crescimento, desenvolvimento ou reprodução destes organismos. De maneira geral, esses metabólitos parecem ser formados quando grandes quantidades de precursores de metabólitos primários, como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, são acumuladas (JAY, 2005; SERRA, 2005).

Estes metabólitos são produzidos principalmente pelas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, e são de ocorrência universal, porém predominam em climas tropicais e subtropicais, onde o desenvolvimento fúngico é favorecido pela umidade e temperatura, sendo recorrente em países em desenvolvimento, proveniente de manejos de produção e estocagem inadequados ou ineficientes, além das condições climáticas propícias. As micotoxinas de grande significado em saúde pública e agricultura incluem as aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas e os alcalóides de Ergot. Essas toxinas são responsáveis por prejuízos de milhões de dólares anuais em saúde humana, animal e produtos agrícolas. A Organização Mundial para a Alimentação e Agricultura (FAO), estimou que entre 5 e 10 % do total de alimentos são perdidos no mundo, anualmente, por ação de fungos e micotoxinas, podendo chegar até 30 % em alguns países, principalmente devido às temperaturas e umidades relativas altas, e que 40 % da redução na expectativa de vida em países pobres está relacionada com a existência de micotoxinas na dieta destas populações (EINLOFT et al., 2009; FAO, 2006; MALLMANN et al, 2009; PEREIRA, 2008).

A contaminação dos alimentos com micotoxinas dá origem a problemas de várias classes: oferecendo risco direto à saúde humana quando são consumidos alimentos contaminados pelas mesmas, efeito cumulativo no organismo humano, perdas de produção agrícola, morte de rebanhos ou queda na produtividade, além das micotoxinas serem biotransformadas nos organismos dos animais, vindo desta forma a contaminar músculos (carne), órgãos, leite e ovos que posteriormente serão ingeridos pelos homens, sendo de forma in natura ou processados. É importante destacar que as micotoxinas permanecem no alimento mesmo após a morte do fungo que a produziu, portanto podem estar presentes nos alimentos e não trazer aspectos visuais de contaminação, como normalmente é possível perceber ao ter contaminação por fungos

(colônias algodonosas), e salientar que algumas dessas toxinas são termoestáveis, resistindo a temperaturas comumente utilizadas durante o processamento dos alimentos (FENNEMA, 1993; SERRA, 2005).

O envenenamento por micotoxinas é chamado de micotoxicose, os sintomas vão desde náuseas, vômitos até óbitos, e provocam efeitos tóxicos diversos no homem e em animais. As micotoxinas possuem a capacidade mutagênica, carcinogênica, teratogênica, citotóxicas, neurotóxicas, imunossupressoras, enquanto outras apresentam toxicidade específica a um órgão. Embora a verdadeira toxicidade de muitas micotoxinas ainda não tenha sido demonstrada para humanos, o efeito destas substâncias em animais de laboratório e em ensaios in vitro deixa poucas dúvidas a respeito de sua toxicidade potencial. Várias micotoxinas foram classificadas pela The International Agency for Research on Cancer (IARC) como carcinogênicos humanos ou potenciais carcinogênicos humanos, são pelo (DINIZ, 2002; JAY, 2005).

As micotoxinas contaminam frequentemente cereais e sementes oleaginosas, como o caso da soja, formando-se durante a colheita e armazenamento. Também podem estar vinculadas a alimentos como: frutos, vegetais, rações industrializadas, leite e derivados, carne, embutidos, vinhos, sucos, queijos curados.

### **3.2.1. Condições para o desenvolvimento de micotoxinas**

A formação dos metabólitos secundários está sujeita ao controle fisiológico geral que responde a fatores ambientais, e em climas tropicais e subtropicais, como o nosso, o desenvolvimento fúngico é favorecido por fatores como excelentes condições de umidade e temperatura. Os fungos crescem e se proliferam bem em cereais, principalmente, no amendoim, milho, trigo, cevada, sorgo e arroz, onde geralmente encontram um substrato altamente nutritivo para o seu desenvolvimento. O crescimento fúngico e produção de micotoxinas em cereais podem ocorrer nas diversas fases do desenvolvimento, maturação, colheita, transporte, processamento ou armazenamento dos grãos. Por isso, a redução da umidade dos cereais através da secagem é de fundamental importância para reduzir os níveis de contaminação, já que o fator umidade é considerado o mais relevante (SANTOS, 2004).

Os fungos produtores de micotoxinas dividem-se, de modo geral, em dois grupos: aqueles que ocorrerem no campo, antes da colheita, denominados fungos de campo, e invadem produtos com conteúdo de umidade de 22 – 25 % em umidade relativa de 90 – 100 %;



e aqueles que atacam após a colheita, denominados de fungos de armazenamento, que invadem produtos com conteúdo de umidade entre 13 – 18 %, em ambientes com 70 – 90 % de umidade relativa, sendo que os fungos mais exigentes são os de campo (SCUSSEL, 1998).

Segundo SCUSSEL (1998), os fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e produção de suas toxinas são classificados em três categorias, sendo estas: fatores físicos, químicos e biológicos, entre eles citam-se a umidade relativa, conteúdo de umidade do substrato, temperatura, luz, danos mecânicos, microambiente, fungicidas, composição do substrato, competição microbiológica e linhagem do fungo contaminante.

### **3.2.2. Umidade relativa (UR)**

A umidade relativa é denominada como a umidade de equilíbrio entre o ambiente e o produto, seu cálculo é feito através da multiplicação da atividade água ( $A_w$ ) por 100. A mesma é dependente da umidade presente no ambiente, podendo ocorrer perda ou ganho da umidade do produto, influenciando na proliferação de fungos. A umidade relativa mínima onde fungos crescem é de 70 %, e a umidade ótima está entre 80 – 90 %, porém, estes podem se desenvolver entre 90 – 100 % de UR. Algumas condições que favorecem o aumento da umidade relativa são: embalagem permeável ou alterada por insetos e/ou roedores, grãos secos estocados com boa ventilação, porém em tempo chuvoso (principalmente com elevada proporção de grãos quebrados), colheita de grãos com umidade elevada e estocados com pouca ventilação, e clima chuvoso com alimentos secando no campo (SCUSSEL, 1998).

#### **3.2.1.1. Conteúdo de umidade do substrato**

É o teor de umidade presente no alimento, e vale ressaltar que o conteúdo baixo de umidade não assegura estocagem eficiente, pois outros fungos podem crescer e liberar água e calor, como é o caso do *Aspergillus glaucus*, que ao crescer eleva a temperatura de 35°C para 40°C, resultando em aumento da temperatura de grãos adjacentes e também da umidade, propiciando condição de desenvolvimento para outros fungos. Fungos do gênero *Fusarium* geralmente invadem e colonizam grãos com nível de umidade entre 22 e 25 %, enquanto que *Aspergillus* e *Penicillium* são encontrados em grãos com umidade entre 13 e 18 % (SANTOS, 2004; SCUSSEL, 1998).

### **3.2.1.2. pH**

Os fungos geralmente se desenvolvem em pH ácido, mas sua faixa de crescimento varia de 2 a 8, para a produção de aflatoxinas a faixa ótima está entre pH 5 a 7 (DINIZ, 2002).

### **3.2.1.3. Temperatura**

A temperatura é um fator menos restritivo do que a umidade com relação ao crescimento de fungos e produção de toxinas, e as diferentes espécies apresentam diferentes faixas de temperatura em que é possível seu desenvolvimento. As condições ótimas de temperatura, em geral, ficam entre 20 a 30°C, podendo considerar como temperaturas mínimas de 3 a 7°C e máxima de 40 a 50°C (SCUSSEL, 1998).

### **3.2.1.4. Microambiente**

O microambiente corresponde à composição gasosa da atmosfera, e os fungos sendo organismos aeróbicos, havendo modificações na atmosfera têm seu crescimento e formação de toxinas alterados. Ocorre pouco crescimento em ambientes com dióxido de carbono ou nitrogênio (SCUSSEL, 1998).

## **3.2.2. Efeito sinérgico das micotoxinas**

A presença de mais de uma micotoxina nos alimentos pode causar efeitos tóxicos sinérgicos, sendo assim a combinação destas pode aumentar a toxicidade das mesmas. Os alimentos podem ser contaminados por um único fungo capaz de produzir mais de uma toxina, quando dois ou mais ingredientes contendo diferentes micotoxinas são utilizados na elaboração de uma ração, ou pela contaminação de um único ingrediente contendo mais de uma espécie de fungo que produza diferentes micotoxinas. No panorama atual pela intensificação do comércio de grãos, as condições têm sido favoráveis à sinergia entre as diversas micotoxinas, devido às rações serem em geral produzidas a partir de uma mistura de ingredientes oriundos de diferentes regiões geográficas, com processamento e armazenamento desuniformes, aumentando a possibilidade de combinações entre toxinas de diferentes partes do mundo na mesma ração. Com a presença de diferentes toxinas simultaneamente na ração, os testes de diagnóstico são dificultados. Devido ao efeito sinérgico, as combinações de micotoxinas têm maior

impacto sobre os animais do que as toxinas isoladas. É importante salientar que níveis aparentemente baixos de toxinas individuais tornam-se importantes quando combinados (DEVEGOWDA e DAWSON, 2011).

### **3.2.3. Prejuízos causados, alternativas para evitar a formação e destoxificação**

A contaminação de alimentos por micotoxinas traz grandes prejuízos econômicos além de problemas de saúde. As perdas econômicas ocorrem por meio de perda direta de produtos agrícolas, perda de animais por óbito, doenças em humanos, diminuição da produtividade, animais com redução na velocidade de crescimento e produtividade, custos indiretos do sistema de controle de micotoxinas, custo de remoção da toxina para tornar o produto aceitável, rejeição do produto pelo mercado importador. O controle da presença de micotoxinas em alimentos passa pela implementação de diversas medidas adequando produção, armazenagem e processamento, sendo que estas medidas podem ser divididas em preventivas ou corretivas. As medidas preventivas consistem em adotar técnicas de cultivo e manejo que inviabilizam o crescimento fúngico, elas podem ser aplicadas no campo ou depois da colheita ter sido efetuada. Consistem em medidas profiláticas como utilização de variedades resistentes a fungos toxigênicos, técnicas agrícolas adequadas (espaços adequados entre as plantas, utilização correta de fertilizantes e irrigação, executar a colheita corretamente no período adequado (maturação fisiológica) com equipamentos pertinentes, evitar secar no campo), correta armazenagem dos produtos agrícola (ambientes limpos, livres de roedores e insetos, controle de aeração temperatura e umidade, movimentação do lote, iluminação) e transporte adequado dos produtos (DILKIN, 2002; PEREIRA, 2008).

Quando as micotoxinas estão presentes são aplicadas medidas corretivas para realizar certos processos de destoxificação, de forma a remover ou reduzir os níveis de micotoxinas a valores aceitáveis, essas medidas são tecnologicamente variadas e podem ser subdivididas em métodos físicos, químicos ou biológicos, sendo que as mais adequadas para se utilizar devem cumprir alguns requisitos como remover ou destoxificar efetivamente as micotoxinas, não originar resíduos tóxicos que possam permanecer nos alimentos, não alterar as propriedades nutricionais dos alimentos e serem técnica e economicamente viáveis, alguns exemplos de medidas adotadas são degradação térmica,

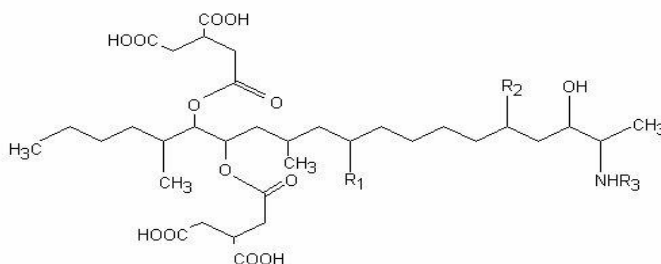
separação de grãos contaminados, microondas, bissulfito, peróxido de hidrogênio, ozônio, bactérias, aditivos, adsorventes. Entretanto, quando a matéria-prima já está contaminada é muito difícil remover na totalidade as micotoxinas e conclui-se que quando possível, a prevenção é a melhor estratégia a ser adotada (PEREIRA, 2008).

### 3.2.4. Fumonisinias

As fumonisinias são produzidas por espécies de fungos do gênero *Fusarium*, as espécies produtoras são *F. verticillioides*, *F. moniliforme* e o *F. proliferatum*. As fumonisinias frequentemente isoladas são B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, sendo que a fumonisinina B<sub>1</sub> é considerada a mais importante devido a sua maior toxicidade, tendo sido declaradas pela IARC como possíveis carcinogênicos para o homem (grupo 2B), de maneira geral, representa até 70 % do total de fumonisinias produzidas em culturas de laboratório ou em milho naturalmente contaminado (KAWASHIMA, 2004; SCUSSEL, 1998).

A fumonisinina B<sub>1</sub> e a fumonisinina B<sub>2</sub> (FBs) são diésteres do ácido propano tricarbóxico e um pentahidroxi-icosano contendo um grupamento amina primário (Fig. 6 ), e possuem estrutura química muito semelhante à estrutura da esfingosina, um lipídio encontrado no cérebro. As fumonisinias não absorvem a luz ultravioleta ou a luz visível, e não são substâncias fluorescentes, elas requerem a sua derivação para que possam ser analisadas e quantificadas (BECKER e BADIALE-FURLONG, 2010; LINO et al., 2006; SCUSSEL, 1998).

**Figura 6.** Estrutura química das fumonisinas.



Fumonisina	R1	R2	R3
B1	OH	OH	H
B2	H	OH	H
B3	OH	H	H
B4	H	H	H
A1	OH	OH	CH <sub>3</sub> CO
A2	H	OH	CH <sub>3</sub> CO

Fonte: Kawashima (2004).

As fumonisinas B<sub>1</sub> são hepatotóxicas e nefrotóxicas para a maioria das espécies animais, causam leucoencefalomalácia em equinos, síndrome do edema pulmonar em suínos, câncer no fígado em ratos e estão estatisticamente correlacionadas com o aumento do risco de câncer do esôfago em seres humanos, são citotóxicas e inibem a síntese proteica e do DNA, promovem estresse oxidativo, induzem a fragmentação do DNA e interrompem o ciclo celular (LINO et al., 2006; SILVA et al., 2007).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-RASHDAN, A.; HELALEH, M.; NISAR I. H. A.; IBTISAM, A.; AL-BALLAM, Z. Determination of the Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Toasted Bread Using Gas Chromatography Mass Spectrometry. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2010, 2010.

BAUDET, L.; VILLELA, F.; CAVARIANI, C. **Princípios de secagem**. Seed news, p.20-27, 1999.

BECKER, T. A; BADIALE-FURLONG, E. Fumonisina B1 e B2 em arroz: um estudo de metodologia e ocorrência. In: Mostra de Produção Universitária, 2010. Universidade Federal do Rio grande. Disponível

em: < <http://www.mpu.furg.br/cd2010/pos/1357.pdf>>. Acesso em: 29 abr. 2014.

BETTIN, S. M.; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 25, n. 2, p. 234-238, 2005.

BIANCHI, F.; BISCEGLIE, F.; CARERI, M.; BERARDINO, S. D.; MANGIA, A.; MUSCI, M. Innovative sol-gel coatings for solid-phase microextraction Development of fibers for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons at trace level in water. **Journal of Chromatography A**, 1196-1197, p. 15-22, 2008.

BORGES, J. M. P. Investigação da citotoxicidade e genotoxicidade dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos indeno[1,2,3-cd]pireno, trifenileno e coroneno. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

BRAUN, S.; APPEL, L. G.; SCHMAL, M. A poluição gerada por máquinas de combustão interna movidas a diesel – a questão de particulados. Estratégias atuais para a redução e controle das emissões e tendências futuras. **Química Nova**, v. 27, p. 472-482, 2004.

BRITO, C. F. de. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em sedimentos. Avaliação da represa Parque Pedroso, Santo André, SP.** 2009. 158 p. Dissertação (Mestre em Ciências na área de tecnologia nuclear - materiais) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, associada à Universidade de São Paulo.

BROOKER, D. B.; BRAKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. **Drying and Storage of Grains and Oilseeds.** New York : AVI Publishing Company, 1992. 450p.

CAMARGO, M. C. R.; ANTONIOLLI, P. R.; VICENTE, E. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons content in different stages of soybean oils processing. **Food Chemistry**, v. 135, p. 937-942, 2012.

CAMARGO, M. C. R.; ANTONIOLLI, P. R.; VICENTE, E. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons content in different stages of soybean oils processing. **Food Chemistry**, v.132, p. 937-942, 2012.

CAMARGO, M. C. R.; ANTONIOLLI, P. R.; VICENTE, E.; TFOUNI, S. A. V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants Part B**, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011.

CAMARGO, M. C. R.; ANTONIOLLI, P. R.; VICENTE, E.; TFOUNI, S. A. V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian commercial soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 4, p. 152–159, 2011.

CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, 2008.

CAVALETT, O. **Análise do Ciclo de Vida da Soja**. 2008. 221 p. Tese (Doutorado em engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas.

CISOJA. Aspectos botânicos. Centro de inteligência da soja. Disponível em: [http://www.cisoja.com.br/index.php?p=aspectos\\_botanicos](http://www.cisoja.com.br/index.php?p=aspectos_botanicos). Acesso em: 08 de janeiro de 2013.

COMMISSION REGULATION (EU) n. 835/2011 de 19 de agosto de 2011. Amending Regulation (EC) n.1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official Journal of European Union, 20 de agosto de 2011. Disponível em: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EN:PDF>. Acesso em: 14 de fev. de 2013.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **ESTUDOS DE PROSPECÇÃO DE MERCADO SAFRA 2012/2013**. 2012. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12\\_09\\_11\\_16\\_41\\_03\\_prospeccao\\_12\\_13.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_09_11_16_41_03_prospeccao_12_13.pdf) Acesso em: 25 de janeiro de 2013.

CORDEIRO, A. 2000. **Sustainable Agriculture in Global Age: Lessons from Brazilian Agriculture**. Swedish Society for Nature

Conservation. BGAB, Estocolmo, Suécia. Disponível em: <http://www.snf.se/pdf/rap-jordbruk-soja-eng.pdf> Acesso em: 13 de fev. 2013.

CORDEIRO, L. H. **Hidrocarbonetos policíclicos Aromáticos nos sedimentos do Estuário da Laguna dos Patos – RS**. 2003. 111 f. Dissertação (Mestre) – Programa pós-graduação em oceanografia física, química e geológica, Fundação Universidade Federal de Rio Grande.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, 1998. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>. Acesso em: 13 de jan. de 2013.

DEVEGOWDA, G.; DAWSON, K. **Micotoxinas: impacto na produção de aves**. Centro de pesquisas avícolas. 2011. Disponível em: <  
<http://centrodepesquisasavicolas.files.wordpress.com/2011/03/micotoxinas.pdf>>. Acesso em: 28 mai 2014.

DILKIN, P. Micotoxicose suína: Aspectos preventivos, clínicos e patológicos. *Biológico*. São Paulo, v.64, n.2, p.187-191, jul./dez., 2002.

DING, C.; NI, H. G.; ZENG, H. Parent and halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons in rice and implications for human health in China. **Environmental Pollution**, v. 168, p. 80-86, 2012.

DINIZ, S. P. S. Micotoxinas. 1 ed. Campinas: Livraria Rural, 2002. 181p.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. **Efeitos da água no rendimento das culturas**. Tradução de H. R. Gheyi; A. A. de Sousa; F. A. V. Damasceno; J. F. de Medeiros (Estudos FAO: Irrigação e Drenagem, 33). Campina Grande: UFPB, 1994. 306p.

DÓREA, H. S.; CARDOSO, M. G. das; NAVICKIENE, S.; EMÍDIO, E. S.; SILVA, T. C. S.; SILVA, M. M. S. Análise de Poluentes Orgânicos Tóxicos na Cachaça. **Revista da Fapese**, v. 4, p. 5-18, 2008.



DOST, K.; IDELI, C. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and barbecued food by HPLC/UV–Vis detection. **Food Chemistry**, v. 133, p. 193–199, 2012.

ELIAS, M. C. **Manejo tecnológico da secagem e do armazenamento de grãos**. Pelotas, Ed. Santa Cruz. 2008. 362 p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embrapa Soja** Disponível em:  
[http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=294&cod\\_pai=17](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17)  
Acesso em: 07 de jan. de 2013.

EINLOFT, T. C.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Aflatoxina B1 em amendoim e produtos derivados comercializados na cidade de Porto Alegre. In: X Salão de Iniciação Científica – PUCRS. Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul. 2009.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. Ed. Atheneu, 2000.

FALCO, G.; DOMINGO, J. L.; LLOBET, J. M.; TEIXIDO, A.; CASAS, C.; MULLER, L. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Human Exposure through the Diet in Catalonia, Spain. **Journal of Food Protection**, v. 66, p. 2325– 2331, 2003.

FAO - Relatório final. Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidade dos Alimentos em África. 3 - 6 de Outubro de 2005. Harare, Zimbábue. Organização das nações unidas para a agricultura e a alimentação. Roma. 2006.

FARHADIAN, A.; JINAP, S.; HANIFAH, H. N.; ZAIDUL, I. S. Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. **Food Chemistry**, v. 124, p. 141–146, 2011.

FARHADIAN, A.; JINAP, S.; FARIDAH, A.; ZAIDULE, I. S. M. Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat. **Food Control**, v. 28, p. 420-425, 2012.

FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 1095p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. **20 th Session of the International Rice Comission (IRC)**. Bangkok, 2002.

GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em cachaça, rum, uísque e álcool combustível. **Quim. Nova**, v. 32, p. 1447-1451, 2009.

GAO, Y.; WU, S. C.; YU, X. Z.; WONG, M. H. Dissipation gradients of phenanthrene and pyrene in the Rice rhizosphere. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 2596-2603, 2010.

GAO, Y.; XIONG, W.; LING, W.; WANG, H.; REN, L.; YANG, Z. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons between plant roots and water. **Plant Soil**, v. 311, p. 201–209, 2008.

GARCÍA-FALCÓN, M. S.; CANCHO-GRANDE B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. **Food Chemistry**, v. 90, p. 643-647, 2005.

GARCIA, V. L. **Estudio preliminar de la contaminación por hidrocarburos policíclicos aromáticos en la yerba mate comercializada en los supermercados de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires**. 2012. Tese (Mestre em Bromatologia e Tecnologia da Industrialização dos Alimentos) - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

GOULART, A. **Fungos em sementes de soja: detecção e importância**. Dourados: EMBRAPA, 1997.

GRANJA, C. U. Toxicologia glyphosato. Bogotá: Clinica de Toxicología. Disponível em: <http://www.clinicadetoxicologia.com.br>. 18 mai. 2015.

GUILLÉN, M. D. **Food additives Contam.** v. 11, p. 669-684, 1994.

HEATH, J. S.; KOBLIS, K.; SAGER, S.; DAY, C. Risk assessment for total petroleum hydrocarbons. In: CALABRESE, E. J. & KOSTECKI, P. T. ed. **Hydrocarbon Contaminated Soils**, v. 3, Lewis Publishers, CRC Press. p. 267-302, 1993.

HIRAKURI, M. H. Avaliação do desempenho econômico financeiro da produção de soja nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, para a safra 2011/12. **Circular técnica Embrapa 89**. Londrina, PR, Novembro, 2011. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT89.pdf> Acesso em: 25 de janeiro de 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

JIAO, X. C.; XU, F. L.; DAWSON, R.; CHEN S. H.; TAO, S. Adsorption and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to rice roots. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 230-235, 2007.

KAGAWA, A. Standard table of food composition in Japan. In: **University of nutrition for women**. Tokyo, 1995. p. 104-105.

KIPOPOULOU, A. M.; MANOLI, E.; SAMARA, C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. **Environmental Pollution**, v. 106, p. 369-380, 1999.

KAWASHIMA, L. M. Micotoxinas em alimentos e bebidas nacionais produzidos e comercializados em diferentes regiões do Brasil. 2004. 110f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

KISHIKAWA, N.; WADA, M.; KURODA, N.; AKIYAMA, S.; NAKASHIMA, K. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography B**, v. 789, p. 257-264, 2003.

KORENAGA, T.; LIU, X.; HUANG, Z. The influence of moisture content on polycyclic aromatic hydrocarbons emission during rice straw burning. **Chemosphere - Global Change Science**, v. 3, p. 117-122, 2001.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; MENDES, R.; GERALDI, I. O.; ARAUJO, W. L.; AZEVEDO, J. L. Efeito do Glifosato sobre a comunidade endofítica de soja. II WORKSHOP SOBRE

BIODEGRADAÇÃO, 2001, Campinas. Anais Embrapa-CNPMA, 2001. p. 361-364.

LAI, C. H.; CHEN, K. S.; WANG, H. K. Influence of rice straw burning on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural county of Taiwan. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, p. 1200–1207, 2009.

LASSERAN, J. C. **Aeração de grãos**. Viçosa: Centro Nacional de Treinamento em Armazenagem, 1981. 128 p.

LI, X. Y.; LI, N.; LUO, H. D.; LIN, L. R.; ZOU, Z. X.; JIA, Y. Z.; LI, Y. Q. A Novel Synchronous Fluorescence Spectroscopic Approach for the Rapid Determination of Three Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tea with Simple Microwave-Assisted Pretreatment of Sample. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 5899–5905, 2011.

LIMA, G. Importance of the nutritional quality of soy beans and their products in the feed market: actual situation and future trends. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Soja**. Londrina: Embrapa SPI. p. 165-175, 1999.

LIN, D.; TU, Y.; ZHU, L. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 41-48, 2005.

LIN, D.; ZHU, L. Factors Affecting Transfer of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Made Tea to Tea Infusion. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 4350–4354, 2006.

LIN, D.; ZHU, L. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Pollution and Source Analysis of a Black Tea. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 8268–8271, 2004.

LINO, C. M.; SILVA, L. J. G.; PENA, A. S. Metodologias analíticas para determinação das fumonisinas em milho e alimentos à base de milho. **Química Nova**. v. 29, n. 2, p. 293-299, 2006.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Champman & Hall, 1997. 532 p.

LORENZO, J. M.; PURRIÑOS, L.; BERMUDEZ, R.; COBAS, N.; FIGUEIREDO, M.; FONTÁN, M. C. G. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: “Chorizo gallego” and “Chorizo de cebolla”. **Meat Science**, v. 89, p. 105–109, 2011.

MALENCIC, D.; POPOVIC, M.; MILADINOVIC, J. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds. **Molecules**, v. 12, p. 576–581, 2007.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; MALLMANN, A. O.; TYSKA, D.; DREIMERIER, D. Efeitos das micotoxinas em Pets. **In:** International Pet Meeting. São Paulo, 2009.

MARTENAA, M. J.; GRUTTERS, M. M. P.; GROOT, H.N. de; KONINGS, E.J.M.; RIETJENS I. M. C. M. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in food supplements containing botanicals and other ingredients on the Dutch market. **Food Additives and Contaminants**, v. 28, p. 925–942, 2011.

MARTÍ-CID, R.; LLOBET, J. M.; CASTELL, V.; DOMINGO, J. L. Evolution of the dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Catalonia, Spain. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 3163–3171, 2008.

MARTORELL, I.; PERELLÓ, G.; MARTÍ-CID, R.; CASTELL, V.; LLOBET, J. M.; DOMING, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. **Environment International**, v. 36, p. 424–432, 2010.

MCGRATH, T. E.; CHAN, W. G.; HAJALIGOL, M. R. Low temperature mechanism for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of cellulose. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 66, p. 51–70, 2003.

MIRANDA, L. C.; SILVA, W. R.; CAVARIANI, C. Secagem de sementes de soja em silo com distribuição radial do fluxo de ar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 34, n. 11, p. 2097–2108, 1999.

MIRSADEGHI, S. A.; ZAKARIA, M. P.; YAP, C. K.; SHAHBAZI, A. Risk assessment for the daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons from the ingestion of cockle (*Anadara granosa*) and exposure to contaminated water and sediments along the west coast of Peninsular Malaysia. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, p. 336–345, 2011.

MO, C. H.; CAI, Q. Y.; TANG, S. R.; ZENG, K. Y.; WU, Q. T. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Phthalic Acid Esters in Vegetables from Nine Farms of the Pearl River Delta, South China. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 56, p. 181–189, 2009.

MOREIRA, M. Programa genético da qualidade de óleo e proteína de soja desenvolvido na UFV. In: EMBRAPA, **Anais do Congresso Brasileiro de Soja na UFV**. Viçosa, p. 99-104, 1999.

NACCARI, C.; CRISTANI, M.; GIOFRÈ, F.; FERRANTE, M.; SIRACUSA, L.; TROMBETTA, D. PAHs concentration in heat-treated milk samples. **Food Research International**, v. 44, p. 716–724, 2011.

NETTO, A. D. P.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Quím. Nova**, v. 23, n. 6, 2000.

NEVES, R. L. S. **Avaliação da contaminação de óleo no ambiente estatutário da Baía de Guanabara (RJ) pela determinação fluorimétrica de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na bÍlis de peixes Mugil Liza**. 2006. 120 f. Dissertação (Mestre em Química Analítica) – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

NIEVA-CANO, M. J.; RUBIO-BARROSO, S.; SANTOS-DELGADO, M. J. Determination of PAH in food samples by HPLC with fluorimetric detection following sonication extraction without sample clean-up. **The Analyst**, v. 128, p. 1326-1331, 2001.

NWOKOLO, E.; SMARTT, J. **Food and Feed from Legumes and Oilseeds**. LONDRES: Aspen Publishers, 1995.

PARAÍBA, L. C.; QUEIROZ, S. C. N.; MAIA, A. H. N.; FERRACINI, V. L. Bioconcentration factor estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3270–3276, 2010.

PARRISH, Z. D.; WHITE, C. J.; ISLEYEN, M.; GENT, M. P. N. IANNUCCI-BERGER, W., EITZER, B.; KELSEY, W. MATTINA, M. I. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species. **Chemosphere**, v. 64, p. 609-618, 2006.

PAVEI, P. T. **Caracterização e estudo do comportamento de Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em Ecossistemas aquáticos contaminados pelas Atividades mineração de carvão.** 2007. Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense.

PEREIRA, L. J. A. Estratégias para o controlo de ocratoxina A em alimentos. 2008. 236 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal.

PINTO, J. I. A. **Estudo dos níveis de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em *Nodipecten nodosus* (Coquilles Saint’Jacques) de fazendas marinhas da Baía de Ilha Grande – RJ.** 2008. 85 p. Dissertação (Mestre) - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/FIOCRUZ.

POHNDORF, R. S. Efeitos da umidade e do resfriamento no armazenamento sobre a qualidade de grãos e do óleo de soja para fins comestíveis e de produção de biodiesel. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

PUMPIN A. M., TOLEDO M. C. F. Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. **Food Chem**, v. 55, p. 185-88, 1996.

RICE, C. A.; MYERS, M. S.; WILLIS, M. L.; FRENCH, B. L.; CASILLAS, E. From sediment bioassay to sh biomarker connecting the dots using simple trophic relationships. **Marine Enviromental Research**, v. 50, p. 527-533, 2000.

ROCHA, R. S. **Avaliação de variedades e linhagens de soja em condições de baixa latitude**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Piauí.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. 5. ed. Londrina: 2005, p.275- 288p.

ROSSI, J.; ROA, G. **Secagem e armazenamento de produtos agropecuários com uso de energia solar e ar natural**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 1980.

SALGUEIRO, L. R. **Factores que Determinan la Presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos como Contaminantes Agroambientales y Alimentarios**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo.

SAMANTA, S. K.; SINGH, O. V.; JAIN, R. K. Polycyclic aromatic hydrocarbons enviromental pollution and bioremediatiom. **Trends in Biotechnology**, v. 20, p. 243-248, 2002.

SANTOS, M. M. Ocorrência de fungos filamentosos e micotoxinas em bagaço de cevada destinado à alimentação do rebanho bovino leiteiro do Estado da Bahia. 2004. 134f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SASSAHARA, M.; YANAKA, E.; PONTES NETO, D. Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados ao gado leiteiro na Região Norte do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 63-72, 2003.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**. Nova Iorque, Wiley, 1991. 681 p.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. 1ed. Florianopolis: Insular, 1998. 144p.



SCUSSEL, V. M.; DA ROCHA, M. W.; LORINI, I.; SABINO, M.; ROSA, C. R.; CARVAJAL, M. M. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem qualitativa de Grãos II**. Primeira Edição. Florianópolis - SC, Copyright, 2008. 586p.

SEBASTIÃO, P. **Revista Plantio Direto**. Disponível em: [http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=1032](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=1032) Acesso em: 23 de jan. de 2013.

SERRA, R. M. A. Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A. 2005. 330f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal.

SERRATE, C. S.; TELES, C. R. A.; CIPOLLI, K. V. A. B; FURLANI, R. P. Z.; TFOUNI, S. A. Z. Formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em café e sua transferência para a bebida. 2010. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutopibic/anais/2010/Artigos/RE10213.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2013.

SILVA, L. C. **ANAIS**. Disponível em: [http://www.agais.com/manuscript/ag0405\\_secagem.pdf](http://www.agais.com/manuscript/ag0405_secagem.pdf) Acesso em: 16 de jan. de 2013

SILVA, L. C. **Fungos e micotoxinas em grãos armazenados**. 2005. Disponível em: <http://www.agais.com/fungos.htm>. Acesso em: 25 de janeiro de 2013.

SILVA, M. D.; PERALBA, M. C. R.; MATTOS, M. L. T. Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 19-28, 2003.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e caracterização de um isolado proteico de soja modificado com perfil de solubilidade de caseína do leite humano**. 2007. 107f. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas (SINITOX). 2012. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=411> Acesso em: 13 mar 2015.

SMITH, A. C. S. J. Soybeans: Chemistry and Technology. In: SMITH, A. C. S. J. **Chemical composition of the seed**. The AviPerblishing, 1972. p. 61-92,

SU, Y. H.; ZHU, Y. G. Uptake of selected PAHs from contaminated soils by rice seedlings (*Oryza sativa*) and influence of rhizosphere on PAH distribution. **Environmental Pollution**, v. 155, p. 359-365, 2008.

TAO S.; JIAO, X. C.; CHEN, S. H.; LIU, W. X.; , COVENEY R. M.; ZHU, L. Z.; LUO, Y. M. Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). **Environmental Pollution**, v. 140, p. 406-415, 2006.

TAO, S.; CUI, Y. H.; XU, F. L.; LI, B. G.; CAO, J.; LIU, W. X.; SCHMITT, G.; WANG, X. J.; SHEN, W. R., QING, B. P.; SUN, R. Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)in agricultural soil and vegetables from Tianjin. **The Science of the Total Environment**, v. 320, p 11–24, 2004.

TEIXEIRA, V. H.; CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: Evaluation in commercial samples and during refining process. **Food Chemistry**, v. 104, p. 106–112, 2007.

TFOUNI, S. A. V.; SERRATE, C. S.; LEME, F. M.; CAMARGO, M. C. R.; TELES, C. R. A.; CIPOLLI, K. M. V. A. B.; FURLANI, R. P. Z. Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 526-530, 2013.

TROCHE, K. S. Parâmetros tecnológicos para a utilização industrial da erva-mate. In: TRCHE, K. S. **Estudo da atividade carcinogênica dos hidrocarbonatos policíclicos aromáticos através de descritores quânticos**. Campinas – São Paulo. 2003. 100 p.

UPSHALL, C.; PAYNE J. F.; HELLOU, J. Induction of MFO. Enzymes and production of bile metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to waste crankcase oil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, vol.12, p. 2105-2112, 1992.

VIEIRA, M. A. **Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) nas etapas do processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e caracterização química dos resíduos da trituração para o desenvolvimento de produto**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

VOUTSA, D.; SAMARA, C. Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. **The Science of the Total Environment**, v. 218, p. 203-216, 1998.

WEY, M. Y.; CHEN, J. C.; WU, H. Y.; YU, W. J.; TSAI, T. H. Formations and controls of HCl and PAHs by different additives during waste incineration. **Fuel** **85**, p. 755-763, 2006.

WILLIAMS, P.; HORNE, P. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, p. 31 39 1995.

WONG, W. W.; SMITH, E. O.; STUFF, J. E.; HACHEY, D. L.; HEIRD, W. C.; POWNELL, H. J. Cholesterol-lowering effect of soy protein in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 68, p. 1385-1389, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (JECFA/64/SC). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives sixty-fourth meeting. **Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)**. Rome, p. 47

YANG, H. H.; TSAI, C. H.; CHAO, M. R.; SU, Y. L.; CHIEN, S. M. Source identification and size distribution of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons during rice straw burning period. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 1266-1274, 2006.

YUSTY, M. A. L.; DAVINA, J. L. C. Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography–fluorescence detection method for polycyclic aromatic hydrocarbons investigation in vegetable oil. **Food Control**, v. 16, p. 59–64, 2005.

ZHANG, S.; NIUA, H.; ZHANG, Y.; LIU, J.; SHI, Y.; ZHANG, X.; CAI, Y. Biocompatible phosphatidylcholine bilayer coated on magnetic nanoparticles and their application in the extraction of several polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water and milk samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1238, p. 38–45, 2012.

## **CAPITULO 2**

### **HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS DURANTE A SECAGEM DE GRÃOS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) SOB DIFERENTES TEMPERATURAS**



## **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos durante a secagem de grãos de soja (*Glycine max* L.) sob diferentes temperaturas**

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi à quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de grãos de soja, por tratar-se de uma fonte de grande importância de proteínas e óleo, submetidos a diferentes temperaturas e tempo de secagem, simulando a secagem realizada durante o processamento após a colheita do grão. Foram realizados cinco tratamentos em diferentes temperaturas (70, 90, 110, 130 e 150 °C) por três variações de tempo (2, 4 e 6 horas), com a finalidade de verificar a formação de HPAs nos grãos de soja. A análise de HPAs foi realizada por cromatografia líquida com detector de fluorescência, e foram analisados 13 HPAs. Foram verificados ainda pH, atividade de água e conteúdo de umidade das amostras tratadas. O HPA encontrado com maior frequência foi o criseno, a amplitude de contaminação variou de 1,75 a 17,51 µg/kg. Foi encontrada forte correlação positiva para todos os tratamentos conforme o aumento do tempo de exposição ao tratamento.

**Palavras-chave:** hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; HPAs; soja; secagem.

### **INTRODUÇÃO**

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos orgânicos, formados por dois ou mais anéis aromáticos condensados. São formados, principalmente, através de processos de combustão incompleta da matéria orgânica e podem ser encontrados como contaminantes em alimentos, água, solo e ar (PLAZA-BOLAÑOS, 2010; LONDOÑO et al., 2013). Estes compostos são produzidos durante uma ampla variedade de processos de combustão e pirólise de fontes antropogênicas e fontes naturais. Quantidades elevadas de HPAs são emitidos a partir de processamento de queima de carvão, durante a combustão incompleta de matéria orgânica (madeira e combustíveis fósseis), de escape de veículos a motor. Os incêndios florestais, erupções vulcânicas, síntese por bactérias e fungos, processos hidrotermais são fontes naturais de emissão de HPAs (WENZL et al., 2006; WEY et al., 2006). HPAs podem ser transportados a longas distancias tanto em forma gasosa quanto ligados

a partículas, antes de sua deposição, e pode acumular-se na vegetação (LIN et al., 2005).

Os HPAs são compostos estudados e de atenção em diversas instituições importantes pelo mundo como a International Agency for Reserachon Cance (IARC), na European Union (UE) e na Environmental Protection Agency (EPA), incluídos nas listas de poluentes prioritários da Agency of Toxic Substances and Disease Register (ATSDR), devido as sua características mutagênicas e cancerígenas já comprovadas. Embora se tenha conhecimento da existência de centenas de HPAs e muitos sejam isolados e estudados, os principais avaliados em alimentos e reconhecidos por organizações internacionais com World Health Organization (WHO) e Food and Agriculture Organization (FAO), International Agency for Reserach on Cance (IARC), devido ao seu potencial carcinogênico, estão 13 compostos: benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(j)fluoranteno (BjF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), dibenzo(a,h)antraceno (DahA), dibenzo(a,e)pireno (DaeP), dibenzo(a,h)pireno DahP, dibenzo(a,i)pireno (DaiP), dibenzo(a,l)pireno (DalP), indeno(1,2,3-c,d)pireno (IcdP) e 5-metilcriseno (5MChr) (FAO, 2008).

Os alimentos podem ser contaminados por HPAs devido a sua presença no ambiente, sendo assim, podem acumular-se nos vegetais e frutas, em caules, vagens e folhas (EFSA, 2007). A presença de HPAs tem sido detectada em diversos alimentos crus, como legumes, sementes e grãos (CAMARGO e TOLEDO, 2002; FALCÓ et al., 2003). Alguns estudos demonstram que a contaminação de HPAs pode dar-se através da possibilidade de vegetais, absorverem e metabolizarem HPAs a partir de solo e água contaminados (SIMON et al., 2005; TAO et al., 2006). Outro exemplo de possível contaminação por HPAs nos alimentos é devido ao tráfego, ou seja, culturas próximas a vias urbanas poderiam ser expostos a HPAs (CAMARGO; TOLEDO, 2003). E em alimentos processados como os óleos comestíveis, a secagem de sementes oleaginosas através de processos de combustão direta pode ser uma importante fonte de contaminação de uma variedade de óleos vegetais (MARTORELL et al., 2010; CAMARGO et al., 2011).

Os HPAs são contaminantes pouco contemplados na legislação brasileira e na legislação internacional não constam limites para esses contaminantes em soja (EC, 2011).

O grão de soja é conhecido por ser um alimento de alta qualidade, devido ao contendo elevado de proteínas e lipídios, além de



conter aminoácidos essenciais e fitoquímicos que incluem isoflavonas, tocoferóis, saponinas e antocianinas (MALENCIC et al., 2007), sendo destinada tanto para alimentação humana (consumo direto ou subprodutos) e animal. Além de contribuir largamente para a economia global, sendo que entre as culturas de grãos, a soja foi a que mais expandiu seu crescimento em termos percentuais entre 1970 a 2002, no âmbito mundial, o crescimento da produção global foi na ordem de 333 %, partindo de 43,7 milhões para 189,2 milhões de toneladas, enquanto as produções de culturas como trigo, arroz, milho, feijão, cevada e girassol cresceram, respectivamente, 79 %, 86 %, 140 %, 52 %, 19 %, 177 % (FAO, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de HPAs em amostras de grãos de soja (fonte importante de proteína e lipídios) durante o processo de secagem, quando submetidos a diferentes temperaturas e tempo, simulando a secagem comercial que ocorre após a colheita da soja.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

*Amostras:* os grãos de soja (*Glycine max* L.) foram coletadas em um montante de 15 kg, antes de serem submetidos ao processo de secagem, no município de Campos Novos situado no estado de Santa Catarina no ano de 2013 através da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC). As amostras foram mantidas nas embalagens originais e estocadas em freezer até o dia das análises.

*Produtos químicos (a) padrões* – originários da Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA) os padrões de HPAs: benzo(a)antraceno - BaA, criseno - Chy, benzo(b)fluoranteno - BbF, benzo(j)fluoranteno - BjF, benzo(k)fluoranteno - BkF, benzo(a)pireno - BaP, dibenzo(ae)pireno - DaeP, dibenzo(ah)antraceno - DahA, dibenzo(al)pireno - DalP, indeno(cd)pireno - IcdP; 5-metlicriseno - 5MeChy, dibenzo(ai)pireno - DaiP e dibenzo(ah)pireno - DahP; *(b) solventes:* acetonitrila e n-hexano (Panreac, Castellar del Vallès, Barcelona, Espanha) ambos grau HPLC. A água utilizada em todos os procedimentos foi obtida através de um sistema de purificação modelo Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, Estados Unidos).

*Equipamentos:* Aqua Lab 4TE, Decagon Devices (São José dos Campos, SP, Brasil), estufa de secagem e esterilização FANEM (São Paulo, SP, Brasil), manifold Phenomenex (Torrance, CA, Estados Unidos) e

sistema de HPLC (Kyoto, Japão) com bomba quaternária, modelo LC-20AT, degaseificador, modelo DGU-20A5, amostrador automático (30 µl loop), modelo SIL-20A, forno, modelo CTO-20A e detector de fluorescência – FLD, modelo RF-10Axl.

*Outros materiais* – coluna de extração em fase sólida Sep-Pak -Vac sílica (500 mg, 55-105 mM tamanho da partícula), Waters (Mildford, MS, Estados Unidos) coluna cromatográfica C<sub>18</sub> de 250 x 4,6 mm (comprimento x diâmetro), 5 µm (tamanho da partícula), modelo 201 TP5, membrana de filtração de nylon (0,45 µm tamanho do poro, 13 mm diâmetro) e filtro de seringa de nylon, 0,45 mm tamanho do poro, 4 mm diâmetro, Waters (Mildford, MS, USA). Software LC solution, Shimadzu (Kyoto, Japão).

## Métodos

*Secagem das amostras:* os grãos de soja foram secos em formas de alumínio (36 x 24 x 5 cm) em estufa de secagem e esterilização, sendo três formas para cada tratamento, as temperaturas utilizadas no tratamento térmico foram de 70, 90, 110, 130 e 150°C, com três variações de tempo para todas as temperaturas de 2, 4 e 6 h (Figura 1).

*Análise de HPAs:* o método utilizado foi proposto por Rey-Salgueiro et al. (2009). As amostras foram previamente trituradas e pesadas ( $1 \pm 0,0001$  g) e os HPAs foram extraídos com hexano em banho ultrassônico (10 min a 35°C) seguido pelo processo de centrifugação (4000 rpm, 10 min), o procedimento foi repetido (3x). O sobrenadante coletado (total: 30 ml), foi parcialmente evaporado através de evaporador rotativo (ca. 3 ml). O filtrado foi lavado 3 vezes e reduzido a 1 ml com auxílio de corrente de nitrogênio. A limpeza do extrato foi realizada através de coluna SPE em um sistema de filtração a vácuo (coluna foi condicionada com hexano, em seguida o extrato de amostra foi carregado e os HPAs foram eluídos com hexano). O extrato foi evaporado completamente e ressuscitado em acetonitrila (500 µl), o filtrado foi coletado em vial âmbar para injeção no HPLC. Um gradiente de eluição composto por dois solventes, acetonitrila e água foi utilizado, com fluxo de 1 ml/min. O programa de gradiente de eluição começou com gradiente linear de 70 - 75 % de acetonitrila (20 min), seguido por gradiente linear de acetonitrila 75 - 100 % (15 min) e 100% de acetonitrila até atingir 55 min. O programa de mudança de comprimento de onda (excitação (ex)/emissão (em)) utilizado para detecção dos HPAs foi: 0,01 min (274 / 414 nm) para BaA, Chr e 5MChr; 16,70 min (312 / 507 nm) para BbF; 18,20 min (290 / 430 nm) para BbF, BkF, BaP, DabP

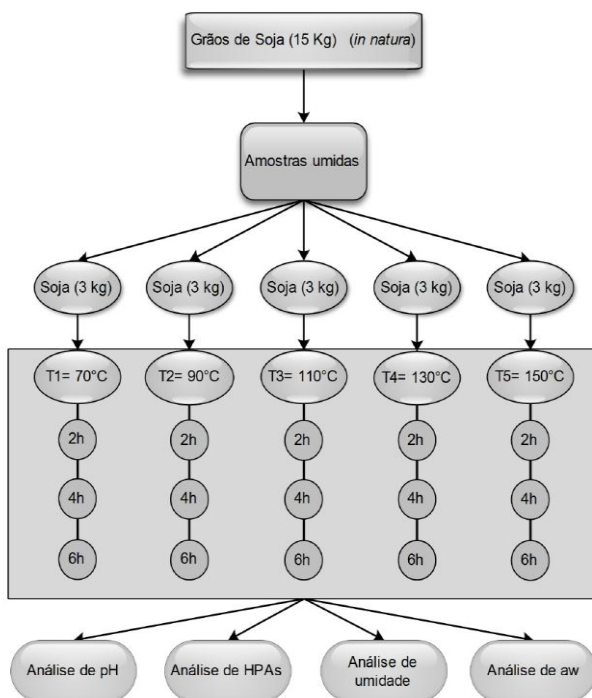
e DahA; 32,40 min (300 / 500 nm) para IcdP; 34,90 min (297 / 403 nm) para DaeP e 45min (304 / 457 nm) para DaiP e DahP.

*Características das amostras:* (a) *pH* – determinado de acordo com a metodologia (2008) e (b) *umidade* - (b.1) *mc* – através de método gravimétrico de acordo com AOAC (2005), (n=3) e a (b.2) *a<sub>w</sub>* – através do equipamento Aqualab (n = 3).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados obtidos, foi possível observar variações na formação de HPAs, tanto quanto aos tipos bem como quantidades. As Tabelas 1 e 2 apresentam os dados quanto aos HPAs detectados e variações no pH, umidade e *a<sub>w</sub>*, respectivamente.

**Figura 1.** Fluxograma representativo do tratamento térmico e análises realizadas nas amostras de soja



Como resultado das características de desempenho do método de cromatografia líquida de alta performance, as curvas de calibração de todos os HPAs apresentaram coeficiente de correlação maiores que 0,994 em pelo menos três ordens de magnitude. A recuperação das amostras foi realizada em triplicata com três níveis de concentração, sendo 0,26, 45 e 132  $\mu\text{g/kg}$ , resultando em recuperações entre 73 a 101 % (o desvio padrão variou entre 4,3 a 10,3 %). Os limites de quantificação (LOQ) variaram entre 1,0  $\mu\text{g/kg}$  para BjF e IcdP e 0,1  $\mu\text{g/kg}$  para os demais HPAs.

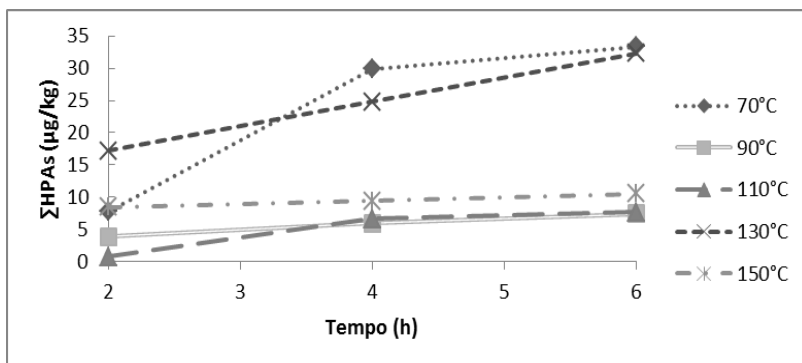
Com relação aos tratamentos térmicos efetuados, pode-se observar que conforme o teste DMS de Fisher, com 5 % de significância as medias dos tratamentos 70 e 130 °C, e 90, 110 e 150 °C não diferiram estatisticamente, para o somatório dos HPAs estudados. Os HPAs que apresentaram maiores níveis de contaminação foram criseno, 5-metilcriseno, dibenzo(a,i)pireno e benzo(a)antraceno em ordem decrescente de contaminação (Tabela 1). Os demais HPAs estudados não apresentaram contaminação acima do limite de quantificação obtido nesse estudo, portanto foi encontrada a presença de apenas 4 HPAs dos 13 estudados a amplitude das contaminações para o BaA foi de ND – 7,21  $\mu\text{g/kg}$ , para o ChR foi ND – 17,51  $\mu\text{g/kg}$ , 5MChR foi ND – 7,14  $\mu\text{g/kg}$  e DaiP foi ND – 10,03  $\mu\text{g/kg}$ . A variação da presença de HPAs pode ser observada na Figura 2, onde é possível verificar que o maior somatório de HPAs foi detectado no tratamento térmico a 70 °C pelo período de 6 horas. E o menor somatório de HPAs foi observado no tratamento de 110 °C por 2 horas. A variação da amplitude dos somatórios dos tratamentos foi de 7,74 – 33,32  $\mu\text{g/kg}$  para o tratamento de 70 °C, 3,89 – 7,39  $\mu\text{g/kg}$  para 90 °C, 0,79 – 7,64  $\mu\text{g/kg}$  para 110°C, 17,17 – 32,30  $\mu\text{g/kg}$  para 130 °C e 8,45 – 10,50  $\mu\text{g/kg}$  para 150 °C. O coeficiente linear de Person foi calculado e apresentou resultado fortemente positivo para todos os tratamentos (70 °C = 0,921, 90 °C = 0,993, 110 °C = 0,926, 130 °C = 0,999, 150 °C = 0,999), demonstrando que com o incremento de temperatura os níveis de HPAs também aumentariam.

É amplamente difundido que os níveis de HPAs são dependentes de fatores como temperatura, fonte de calor, disponibilidade de oxigênio, tempo de exposição, presença ou ausência de chama, eficiência da combustão, material particulado gerado durante a combustão (GARCÍA-FALCÓN e SIMAL-GÁNDARA, 2005; WEY et al., 2006). A secagem de grãos de soja foi realizada com aquecimento indireto (estufa), acredita-se que os níveis de HPAs poderiam ter sido maiores caso fosse utilizada uma fonte de aquecimento direto (como é

realizado o processo nos secadores industriais), como constatado no experimento com pão, que utilizou ambas formas de aquecimento e obteve maiores níveis de contaminação na utilização de fontes diretas de aquecimento (REY-SALGUEIRO et al., 2009).

Um processo bastante utilizado no Brasil para fornecimento de ar quente com a finalidade de secar grãos é a combustão da lenha em fornalhas de fluxo contracorrente, contudo a combustão nestas fornalhas geralmente é incompleta, e há emissão de monóxido de carbono, e materiais particulados como os HPAs, comprometendo assim a qualidade dos grãos. Fatores que contribuem para a geração de produtos indesejáveis, nesse tipo de combustão, são dimensionamentos incorretos, associados à inadequada operação, principalmente uso de lenha verde ou úmida, ou falta de regularidade no abastecimento da câmara de combustão, resultam em excesso de velocidade do ar na fornalha e combustão incompleta, contribuindo para altas contaminações de grãos (MARTINS et al., 2002; KLAUTAU, 2008).

**Figura 2.** Representação do somatório de HPAs dos tratamentos de secagem



A amplitude de valores de pH foi 6,12 a 6,68 com valor médio de 6,49, mediana 6,59 e desvio padrão 0,20. Não foi observada uma diferença significativa nos valores de pH pela ANOVA ao nível de 5 % de significância, demonstrando que o incremento de temperatura não afetou significativamente o pH. Apesar de ser possível perceber que ocorre decréscimo do pH, conforme maior tempo de exposição a temperatura e também ocorre a diminuição dos valores de pH conforme o aumento de temperatura dos tratamentos. A atividade de água (aw)

apresentou uma média de 0,60 para o tratamento a 70 °C, 0,49 para 90 °C, 0,25 para 110 °C, 0,10 para 130 °C e 0,20 para 150 °C. Os tratamentos 70 °C e 90 °C; 130 °C e 150 °C não diferiram significativamente, os demais diferiram significativamente conforme o teste DMS de Fisher ao nível de 5 %, demonstrando que os tratamentos estatisticamente iguais causaram efeitos semelhantes nas amostras. O efeito causado no parâmetro aw foi o mesmo causado no pH, diminuindo os valores com o aumento do tempo de tratamento e com o aumento da temperatura utilizada. Os resultados de umidade obtidos da análise de médias dos tratamentos demonstram que os tratamentos térmicos aplicados não diferiram significativamente pela ANOVA ao nível de 5 % de significância. Assim como o tratamento a 130 °C pelo tempo de exposição por 4 h e 6 h, e o tratamento a 150 °C por 4 h e 6 h não diferiram significativamente, os demais tratamentos todos diferiram ao longo do tempo conforme o teste DMS de Fisher ao nível de 5 %, novamente o comportamento anteriormente mencionado foi repetido, conforme, conforme o aumento da temperatura de tratamento houve a diminuição do conteúdo de umidade. Com relação ao aumento de tempo de tratamento em certos casos não houve diferença significativa.

Em relação aos dados obtidos é possível perceber que o aumento do tempo de tratamento foi fator de aumento na concentração de HPAs e da diminuição significativa dos aspectos analisados. Sendo assim é mais vantajoso utilizar temperaturas mais elevadas em um espaço de tempo menor para evitar a formação de HPAs.

**Tabela 1.** Dados dos HPAs (µg kg-1) formados durante o processo de secagem dos grãos de soja (*Glycine max* L.) a diferentes temperaturas e tempos de exposição

Tratamento (°C)	Tempo (h)	BaA <sup>2</sup>	Chr <sup>3</sup>	5MChr <sup>4</sup>	BjF <sup>5</sup>	BbF <sup>6</sup>	BkF <sup>7</sup>	BaP <sup>8</sup>	DalP <sup>9</sup>	DahA <sup>10</sup>	IcdP <sup>11</sup>	DaeP <sup>12</sup>	DaiP <sup>13</sup>	DahP <sup>14</sup>	Σ tratamento
70	2	ND <sup>1</sup>	7,74	0,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7,74
70	4	ND	14,77	6,14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8,96	ND	29,87
70	6	ND	16,15	7,14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10,03	ND	33,32
90	2	ND	1,75	2,14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,89
90	4	ND	1,80	3,41	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,78	ND	5,99
90	6	ND	2,15	3,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,74	ND	7,39
110	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,79	ND	0,79
110	4	ND	1,95	4,24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,44	ND	6,63
110	6	ND	2,62	4,27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,75	ND	7,64
130	2	ND	11,93	4,69	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,55	ND	17,17
130	4	5,31	12,65	6,14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,71	ND	24,81
130	6	7,21	17,51	6,80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,78	ND	32,30
150	2	ND	8,45	0,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8,45
150	4	ND	8,73	0,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,71	ND	9,44
150	6	ND	9,67	0,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,83	ND	10,50
Σ HPA		12,52	117,87	48,47											27,07

<sup>1</sup> não detectado <sup>3</sup>benzo(a)antraceno <sup>4</sup>chrysene <sup>5</sup>5-metilcriseno <sup>6</sup>benzo(j)fluoranteno <sup>7</sup>benzo(k)fluoranteno  
<sup>8</sup>benzo(a)pireno <sup>9</sup>dibenzo(a,l)pireno <sup>10</sup>dibenzo(ah)antraceno <sup>11</sup>indeno(1,2,3-cd)pireno <sup>12</sup>dibenzo(ae)pireno <sup>13</sup>dibenzo(al)pireno  
<sup>14</sup>dibenzo(ah)pireno.

**Tabela 2.** Dados de pH, atividade de água e umidade das amostras de soja (*Glycine max* L.) tratadas termicamente

Soja		pH $\bar{X}$	aw $\bar{X}$	Umidade $\bar{X}$
Temperatura (°C)	Tempo (horas)			
70	2	6,68	0,74	13,86
	4	6,62	0,59	9,40
	6	6,61	0,47	7,66
90	2	6,65	0,77	13,70
	4	6,67	0,40	5,45
	6	6,59	0,31	4,86
110	2	6,68	0,37	5,66
	4	6,62	0,26	4,42
	6	6,59	0,12	1,64
130	2	6,42	0,18	2,64
	4	6,25	0,07	0,80
	6	6,26	0,07	0,47
150	2	6,48	0,44	6,12
	4	6,12	0,08	0,83
	6	6,15	0,06	0,44

## CONCLUSÃO

A metodologia utilizada para extração e purificação das amostras de grãos de soja se mostrou eficiente devido aos níveis de recuperação alcançados. Os tratamentos utilizados, a fim de simular o processo de secagem, demonstraram os HPAs foram formados e contribuíram para a contaminação dos grãos de soja, independente das temperaturas utilizadas (faixa 70 – 150 °C), e tempo (2 – 6 h) de exposição dos grãos. Chry seguido de 5MeChry foram os HPAs encontrados com maior frequência nas amostras analisadas e em níveis mais elevados. Cabe salientar que a secagem foi realizada em forno elétrico, (sem exposição adicional de compostos particulados) e que provavelmente a contaminação seria maior em caso de utilização de outras fontes de aquecimento (aquecimento direto). É importante destacar que não existe legislação de HPAs para soja.

**AGRADECIMENTOS:** Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC) pelo fornecimento de amostras e



a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[FAO] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION.CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CX/CF 08/2/9) (2008). Joint FAO/WHO food standards programme Codex Committee on contaminants in foods, second session. Disponível em: [http://www.slv.se/upload/livstecknet/dokument/faktabank/livsmedelsteknik/CA\\_CodeOfPractice\\_PAH.pdf](http://www.slv.se/upload/livstecknet/dokument/faktabank/livsmedelsteknik/CA_CodeOfPractice_PAH.pdf). Acesso em 13 de janeiro de 2013.

[WHO] WORLD HEALTH ORGANIZATION.International Programme on Chemical Safety (IPCS).Selected non- heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons.Genebra, 1998.Environmental Health Criteria,202.

AOAC.Official methods of analysis.Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 2005.

CAMARGO, M. C. R.; ANTONIOLLI, P. R.; VICENTE, E.; TFOUNI, S. A. V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants Part B**, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits.**Food Control**, v.14, p.49-53, 2003.

CAMARGO, M.; TOLEDO, M. Avaliação da Contaminação de Diferentes Grupos de Alimentos por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. **Brazilian Journal Food Technology**, v.5, p. 19-26, 2002.

COMMISSION REGULATION (EU) n. 835/2011 de 19 de agosto de 2011. Amending Regulation (EC) n.1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs.OfficialJournalofEuropean Union, 20 de agosto de 2011. Disponível em: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EN:PDF>. Acesso em: 14 de feb.de 2013.

FALCO, G.; DOMINGO, J. L.; LLOBET, J. M.; TEIXIDO, A.; CASAS, C.; MULLER, L. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Human Exposure through the Diet in Catalonia, Spain. **Journal of Food Protection**, v. 66, p. 2325–2331, 2003.

Findings of the EFSA data collection on polycyclic aromatic hydrocarbons in food, 29 June 2007, available on: <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/33r.pdf> (May 2010).

GARCÍA-FALCÓN, M. S.; SIMAL-GÁNDARA, J. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke from different woods and their transfer during traditional smoking into chorizo sausages with collagen and tripe casings. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, p. 1–8, 2005.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER 2013. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–107. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>

KLAUTAU, J. V. P. **Análise experimental de uma fornalha a lenha de fluxo co-corrente para secagem de grãos**. 2008. 193 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LIN, D.; TU, Y.; ZHU, L. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 41–48, 2005.

LONDOÑO, V. A. G.; GARCIA, L. P.; SCUSSEL, V. M.; RESNIK, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Argentina and Brazil. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 30, p. 1573–1580, 2013.

MALENCIC, D.; POPOVIC, M.; MILADINOVIC, J. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds. **Molecules**, v. 12, p. 576–581, 2007.

MARTINS, R. R.; FRANCO, J. B. R.; OLIVEIRA, A. V.; ANGONESE, C. Secagem de grãos para propriedade familiar. In: **Armazenagem de**

**grãos** / Irineu Lorini, Lincoln Miike, Vildes Scussel – Campinas: IBG, 2002.

MARTORELL, I.; PERELLÓ, G.; MARTÍ-CID, R.; CASTELL, V.; LLOBET, J. M.; DOMING, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. **Environment International**, v. 36, p. 424–432, 2010.

PLAZA-BOLAÑOS, P.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food and beverages. Analytical methods and trends. **Journal of Chromatography**, p. 6303–6326, 2010.

REY-SALGUEIRO, L.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GARCÍA-FALCÓN, M. S.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in infant foods. **Food Chem.** v. 115, p. 814–819, 2009.

SALGUEIRO, L. R. **Factores que Determinanla Presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos como Contaminantes Agroambientales y Alimentarios**. 2008. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo, Ourense, 2008.

SIMON, R.; DE LA CALLE, B.; PALME, S.; MEIER, D.; ANKLAM, E. **Journal of Separation Science**, v. 28, p. 871, 2005.

TAO, S.; JIAO, X. C.; CHEN, S. H.; LIU, W. X.; COVENEY JR, R. M.; ZHU, L. Z.; LOU, Y. M. Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). **Environmental Pollution**, v. 140, p. 406–415, 2006.

WENZL, T.; SIMON, R.; KLEINER, J.; ANKLAM, E. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 7, 2006.

WEY, M. Y.; CHEN, J. C.; WU, H. Y.; YU, W. J.; TSAI, T. H. Formations and controls of HCl and PAHs by different additives during waste incineration. **Fuel**, v. 85, p. 755–763, 2006.



## **CAPITULO 3**

### **LEVANTAMENTO DE NÍVEIS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS DE SOJA (*GLYCINE MAX* L.) PARA VEGANOS**



## **Levantamento de níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em diferentes marcas comerciais de soja (*Glycine max* L.) para veganos**

### **RESUMO**

Este trabalho aborda um levantamento dos níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em grãos de soja vendidos para consumo direto, especialmente destinados a veganos. Os dados obtidos mostraram a presença de HPAs em 89,7 % de amostras estudadas. Criseno (Chry) foi o HPA com maior ocorrência, seguido por 5-metilcriseno (5MeChry) e dibenzo(ai)pireno (DaiP), que estavam presentes em 76,9, 71,8 e 23,1 % das amostras, respectivamente. Além disso, o benzo(a)antraceno (BaA), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF) e benzo(a)pireno (BaP) foram detectados, em menores porcentagens. Em relação número de HPAs por amostra de soja, a metade delas (50 %), estavam contaminadas com 2 HPAs (Chry / 5MeChry, Chry / DaiP ou 5MeChry / DaiP) e 30 % apresentaram 3 - 6 HPAs em diferentes combinações de BaA, Chry, BbF, 5MeChry, BkF, BaP e / ou DaiP. Os níveis de HPAs nas amostras positivas variou de 0,80 - 202,46 µg/kg.

**Palavras-chave:** hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; HPAs; soja; grãos; veganos.

### **INTRODUÇÃO**

A soja (*Glycine max* L.) é uma cultura de destaque no contexto global, principalmente para a produção de óleo. É também utilizado como importante fonte de proteína, especialmente para o consumo por vegetarianos, como substituinte da carne. Embora possam obter a proteína de diferentes legumes, a proteína de soja é amplamente difundida (adicionados em diferentes pratos, através de cozimento, derivados, entre outras formas de consumo) (GOMES et al, 2009; NEVES, 2011).

Na medida em que o consumo de soja (inteira, óleo, proteína ou casca / farelo, demais derivados) está em destaque sua segurança é motivo de atenção, é importante que a soja esteja livre de resíduos tóxicos como pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – HPAs, compostos produzidos por fungos - micotoxinas (GARCIA et al, 2014; SAVI et al, 2014).

Os HPAs são um grupo de moléculas de compostos orgânicos (dois ou mais anéis aromáticos condensados), produzidos durante a combustão incompleta (altas temperaturas entre 400 e 800 °C) e estão largamente distribuídos na natureza (ar, solo, plantas, água), e também pode ser produzido durante os diferentes processamentos térmicos sofridos pelos alimentos (VIVES et al., 2001). Embora tenham sido isolados e estudados dezenas de HPAs, os principais avaliados em alimentos e reconhecidos por organizações internacionais World Health Organization (WHO) e Food and Agriculture Organization (FAO), International Agency for Reserach on Cance (IARC), bem como por seu potencial carcinogênico, estão treze desses compostos: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(a,h)antraceno, dibenzo(a,e)pireno, dibenzo(a,h)pireno, dibenzo(a,i)pireno, dibenzo(a,l)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno e 5-metilcriseno (FAO, 2008).

Alguns deles, especialmente os de massa molecular elevada, são altamente cancerígenos e têm sido associados a vários tipos de câncer em humanos (ALOMIRAH et al., 2011). Os HPAs são classificados em diferentes grupos de carcinogenicidade segundo o IARC, alocados entre o Grupo 1 (carcinogênico para humanos) e Grupo 3 (não classificável em relação à carcinogenicidade para humanos). O B(a)P é considerado o composto mais prejudicial dessa classificação (Grupo 1), sendo comprovadamente carcinogênico para humanos, seguido do dibenzo(a,h)antraceno (Grupo 2A - provavelmente carcinogênico para humanos (IARC, 2015). Sendo que a exposição humana aos HPAs pode ocorrer, além das vias aéreas e dérmica, através da ingestão de alimentos e / ou água contaminados sendo rapidamente absorvidos pelos pulmões, pele e intestinos (BRITO, 2009).

Cereais como milho, trigo, arroz e leguminosas como feijões, ervilhas, lentilhas, têm sido relatados como contaminados por HPAs por vários autores, com algumas amostras com resultados positivos com diferentes moléculas de HPAs (CAMARGO e TOLEDO, 2002; FALCO et al, 2003; PARAIBA et al, 2008; MARTORELL et al, 2010). Os autores relatam que a contaminação por HPAs ocorrem principalmente através do meio ambiente (solo, água ou atmosfera contaminada) e / ou por processamento térmico aplicado nas diversas matérias-primas (como a secagem dos grãos para o armazenamento ou processos térmicos severos utilizados para alguns alimentos), incluindo também o contato com as embalagens (REINIK et al, 2007; GARCIA et al, 2014).



Portanto, o controle de qualidade e segurança da soja é importante no contexto das cadeias produtivas de alimentos em relação contaminações por HPAs, e deve receber atenção de vários aspectos. Onde as culturas são plantadas, áreas rurais ou urbanas (próxima a rodovias, indústrias), atmosfera do local, procedência da água utilizada para irrigação, solo contaminado, fertilizantes utilizados, embalagens. E até mesmo após a colheita, relativo ao processamento da cultura, como é realizado o tratamento de secagem (fonte de geração e calor utilizada, presença adequada de gases, dimensionamento adequado de fornalha, tempo e temperatura de contato).

Considerando a ausência de informações relativas à contaminação de HPAs em grãos integrais de soja para veganos ou snacks, e à necessidade de informações de segurança relativas ao seu processo de secagem e possível formação de HPAs (também da contaminação de campo), foi desenvolvido um estudo, destinado a orientar o consumo humano e alertar a importância do contaminante supracitado nessa cultura.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

*Amostras:* soja (total: 39), vendidas em embalagens (0,5 - 1 kg) e a granel, comercializadas em lojas de produtos naturais, nos estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) (região Sul), no entanto, produzidos em diferentes regiões do Brasil (São Paulo (SP), Paraná (PR), RS, SC). A Tabela 1 mostra a origem das amostras e características.

*Produtos químicos:* (a) *padrões* - HPAs foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos), benzo(a)antraceno - BaA, criseno - Chry, benzo(b)fluoranteno - BbF, benzo(j)fluoranteno - BjF, benzo(k)fluoranteno - BkF, benzo(a)pireno - BaP, dibenzo(a,e)pireno - DaeP, dibenzo(ah)antraceno - DahA, dibenzo(al)pireno - DalP, indeno(1,2,3-cd)pireno - IcdP; 5-metilcriseno - 5 MeChry, dibenzo(ai)pireno - DaiP e dibenzo(ah)pireno - DahP; (b) *solventes* - acetonitrila e n-hexano, Panreac (Castellar del Vallès, Barcelona, Espanha), todos grau HPLC; e água ultrapura, Millipore (Billerica, MA, EUA).

*Equipamentos:* Aqua Lab 4TE, Decagon Devices (São José dos Campos, SP, Brasil), estação de filtração a vácuo SPE (12 posições), AHO-6023, Phenomenex (Torrance, CA, Estados Unidos) e sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) Shimadzu (Kyoto,

Japão) com bomba quaternária, modelo LC-20AT, desgaseificador, modelo DGU-20A5, amostrador automático (loop 30 µl), modelo SIL-20A, forno de coluna, modelo CTO-20A e detector de fluorescência - FLD, modelo RF-10Axl.

*Outros materiais* – colunas de extração em fase sólida (SPE) Sep-Pak Sílica -Vac (500 mg, 55-105 mM de tamanho de partícula), Waters (Mildford, MS, Estados Unidos) coluna cromatográfica C<sub>18</sub> de 250 x 4,6 mm (comprimento x diâmetro), 5 µm (tamanho de partícula), modelo 201 TP54, Vydac (Hesperia, CA, Estados Unidos); filtro de membrana de nylon (tamanho de poro de 0,45 µm, diâmetro de 13 mm) e filtro de seringa de nylon (tamanho de poro de 0,45 µm, diâmetro de 4 mm), Waters (Mildford, MS, Estados Unidos). Software LC solutions, Shimadzu (Kyoto, Japão).

## Métodos

*Coleta de amostra:* foram coletadas aleatoriamente em diversas lojas de produtos naturais e supermercados dos estados do RS e SC. Os grãos de soja foram de diferentes marcas, tipos (inteiros, descascados e aromatizados), orgânicos (sem pesticidas aplicados) e sistemas (tratamentos regulares de culturas) de plantio convencional. Foram adquiridos em embalagens (0,5 - 1 kg) de polipropileno (PP), seladas a quente ou adquiridas a granel, sacos plásticos de polietileno (PE). As amostras foram identificadas e armazenadas sob refrigeração ( $4 \pm 1$  °C) ate a análise. A Tabela 1 apresenta detalhes em matéria de origem (onde eles foram adquiridas e produzias), marcas pesquisadas e as condições de colheita.

*Análise de HPAs:* o método aplicado foi de Rey-Salgueiro et al. (2009). Resumidamente, as amostras foram moídas, pesadas ( $0,0001 \pm 1$  g) e os HPAs foram extraídos com hexano (10 min a 35 °C) seguido por centrifugação (4000 rpm, 10 min). O procedimento foi repetido (3 x), os sobrenadantes recolhidos (total: 30 ml) e parcialmente evaporadas em evaporador rotativo (ca. 3 ml). Em seguida, filtrou-se, lavou-se (3 x) e reduzida para 1 ml com uma corrente de nitrogênio. A limpeza do extrato foi realizada através de colunas SPE em sistema de filtração a vácuo (a coluna foi condicionada com hexano, em seguida, o extrato da amostra foi carregado e os HPAs foram eluídos com hexano). Após evaporação completa do extrato, o mesmo foi redissolvido em acetonitrila (500 µl), filtrado e recolhido em frasco âmbar para injeção no cromatografo. O gradiente de solvente de eluição foi de acetonitrila e água com um fluxo de 1 ml/ min. O gradiente iniciado com 70 - 75 % de

acetonitrila (20 min), seguido de 75 – 100 % de acetonitrila (15 min) e mantida a 100 % de acetonitrila isocrático até (55 min). O programa de mudança de comprimento de onda de excitação / emissão aplicado para a detecção de HPAs foi: 0,01 min (274 / 414 nm) para BaA, Chry e 5Mhr; 16,70 min (312 / 507 nm) para BjF; 18,20 min (290 / 430 nm) para BbF, BkF, BaP, DaIP e DahA; 32,40 min (300 / 500 nm) para IcdP; 34,90 min (297 / 403 nm) durante 45 min DaeP (304 / 457 nm) e DaIP para DahP.

*Características das amostras:* (a) *dimensões* - realizadas pela medição dos diâmetros e comprimentos de cada grão individualmente (50) de acordo com Siqueira et al. (2011) por meio de um paquímetro nos eixos ortogonais (mm) (comprimento / eixo maior, largura / eixo médio e espessura / eixo menor) , e calculada como proposto por Mohsenin (1986). (b) *pH* - realizadas de acordo com o método de IAL (2008) e (c) *umidade* - (c.1) mc - pelo método gravimétrico da AOAC (2005), (n = 3) e o (c.2) aw - através do instrumento Aqualab aw (n = 3).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados obtidos, foi possível observar que os grãos das amostras analisadas apresentaram diferentes tamanhos e diferentes valores de umidade (mc / aw). Os HPAs foram detectados em diferentes concentrações e número de compostos por amostra (Figura 1). As Tabelas 1 e 2 mostram as características e presença de contaminantes.

### Características das amostras de soja e umidade

A maioria das amostras de soja analisadas foi produzida por culturas convencionais, apenas 11 e 9 % obtidas a partir de sistemas de cultivos orgânicos sendo vendidos no RS e SC, respectivamente. Essas amostras foram cultivadas / embaladas em diferentes estados (PR, RS, SC, SP). Observou-se que os grãos adquiridos possuíam diferentes tamanhos, o que podem influenciar no momento de pirólise / reação diferente (superfície de contato), durante a formação de HPAs. Eles eram de tamanhos pequenos (média: 6,14 mm - min 5,56, max 6,56), principalmente do estado RS e grandes (média: 7,16 mm - min 6,62, max 7,68) dos estados PR, SP, SC. Em relação ao pH e umidade (condições que podem permitir o desenvolvimento de esporos de fungos), as medições de pH mostraram ligeira variação, eles variaram 6,34 - 6,57 (ácido o suficiente para o crescimento de fungos). O valor

médio para conteúdo de umidade da soja foi de 10,66 % (min 3,02, max 12,89) e a média  $a_w$  foi 0,6236 (min, 0,4295, max 0,7132). Alguns dados de  $mc$  e  $a_w$  revelam que são suficientemente altas para a sobrevivência de esporos de fungos (Tabela 1). Quando esses valores de pH obtidos são combinados com alta umidade (tanto  $mc$  /  $a_w$ ), eles podem permitir que os fungos cresçam rápido.

### **Presença de HPAs, tipos e níveis detectados**

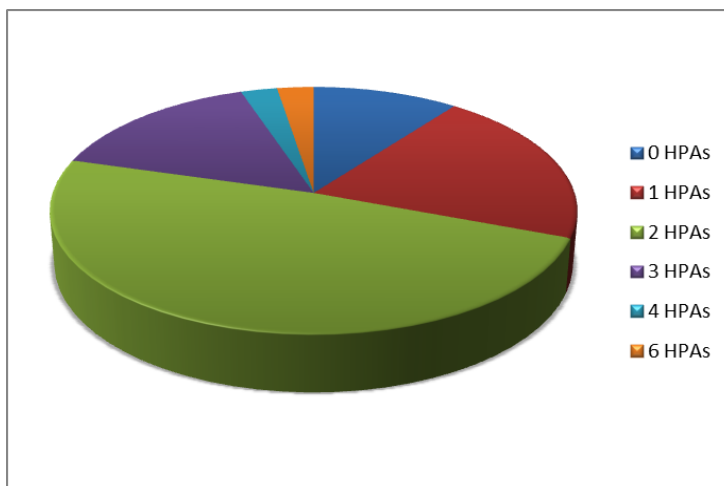
*Validação do método* - os parâmetros de desempenho do método para a detecção e quantificação de HPAs por LC / FLD foram obtidas curvas de calibração com coeficiente de correlação de 0,994 para todos os HPAs. A recuperação de amostras (em concentrações de 0,26, 45 e 132  $\mu\text{g/kg}$  -  $n = 3$ ) variou entre 73 – 101 % com DP variando 4,3 - 10,3 %. Os limites de quantificação (LOQ) foram de 1,0  $\mu\text{g/kg}$  para B<sub>j</sub>F e IcdP e 0,1  $\mu\text{g/kg}$  para os demais HPAs.

*Amostras positivas e níveis* – das amostras de soja vendida nos estados RS e SC, foi encontrada a presença de 7 HPAs (BaA, Chry, 5MeChry, BbF, BkF, BaP e DaiP), os níveis podem ser observados na Tabela 2. O nível mais alto foi de Chry (103,89  $\mu\text{g/kg}$ ), seguido por BbF / 5MeChry (18,52 / 18,24  $\mu\text{g/kg}$ ) e BaA (58,75  $\mu\text{g/kg}$ ), já para BkF / BaP as concentrações registradas foram mais baixas. É importante destacar que não há limite máximo tolerável (LMT) estabelecido na legislação nacional e internacional para a contaminação de HPAs em soja. Figura 1 mostra os diferentes HPAs detectados na mesma amostra, onde é possível observar que a maioria das amostras positivas estavam contaminadas por 2 HPAs (50 %), seguido por amostras com a presença de 3 a 6 HPAs (30 %). Em relação ao somatório dos HPAs analisados, a amostra com maior contaminação apresentou 202,46  $\mu\text{g/kg}$  (obtida pela soma de 6 HPAs), produzida e embalada no estado de SP. O HPA encontrado com maior frequência nas amostras foi Chry, e apenas 10 % das amostras não apresentaram contaminação por HPAs. Os níveis encontrados neste estudo foram maiores do que os relatados em outros estudos (CAMARGO e TOLEDO, 2002; FALCÓ et al., 2003; PARAIBA et al., 2008; MARTORELL et al., 2010). Paraíba et al. (2008) analisaram amostras de milho (cultivadas em solos tratados com lodo de esgoto) e relatou que a contaminação média foi de 0,34  $\mu\text{g/kg}$ . A maior contaminação encontrada foi (3  $\mu\text{g/kg}$ ) foi de fenantreno (PHE), um HPA de baixa massa molecular (que não foi incluído neste levantamento). Falcó et al. (2003) analisaram vários alimentos, entre os

quais feijão, lentilha e arroz. A contaminação variou 0,11 - 4,28  $\mu\text{g/kg}$ , com o somatório máximo dos HPAs atingindo 2,89  $\mu\text{g/kg}$ . O HPA que apresentou maior contaminação também foi PHE. Martorell et al. (2010) investigaram HPAs em feijão, lentilha, ervilha e grão de bico e soma dos níveis variou de 0,75 - 2,30  $\mu\text{g/kg}$ . Por outro lado, Camargo e Toledo (2002) não detectou HPAs em grãos, no entanto, em arroz e ervilha, o somatório médio foi de 0,13 e 1,31  $\mu\text{g/kg}$ , respectivamente. No arroz a maior concentração encontrada foi para BP (0,13  $\mu\text{g/kg}$ ) e em ervilhas de BbF (0,48  $\mu\text{g/kg}$ ). No presente estudo o maior somatório foi de 202,46  $\mu\text{g/kg}$ , concentração superior aos estudos supracitados.

Levando em consideração a importância da localização do cultivo para uma possível contaminação foram comparadas as concentrações de HPAs contidas em amostras de alface e tomate cultivadas próximas a rodovias, com as concentrações destes mesmos produtos cultivados em áreas rurais, foi possível comprovar que há uma relação entre a presença humana e os níveis de HPAs no ambiente e nos alimentos. Os níveis de B(ghi)P foram elevados tanto na alface quanto no tomate (2,4 e 3,45  $\mu\text{g/kg}$ , respectivamente) quando cultivados próximos a rodovias. Diferente dos níveis nesses vegetais (0,45 e 0,90  $\mu\text{g/kg}$ , respectivamente) quando cultivados e coletados de área rural (CAMARGO; TOLEDO, 2003).

**Figura 1.** Quantidade de HPAs simultaneamente detectados nas amostras de soja (*Glycine max* L.) vendidas na região sul do Brasil



Em relação ao estudo atual e a origem (produção) por níveis de contaminação ( $\sum$  PAH) dos estados produtores de soja (vendida em estabelecimentos de produtos naturais no RS e SC), os resultados foram os seguintes: (a) as amostras vendidas em SC, os estados produtores foram (em ordem decrescente) SP > PR > RS > SC (b) as amostras vendidas no RS, os produtores foram (ordem decrescente) os estados RS > SP > SC. As amostras provenientes de SP e vendidas em SC - além de apresentar níveis de BaA/ Chry/ 5MeChry teve também a presença de BbF / BbF / BkF. As amostras do RS, produzidas e vendidas no próprio estado, além das produzidas no estado de SP, apresentaram contaminação por DaiP.

A origem da contaminação por HPAs pode ser proveniente do (a) campo, durante o cultivo da soja através de atmosfera, solo, água, estradas, contaminação por absorção, fertilizantes ou (b) formada durante o período de pós-colheita por meio do processo de secagem aplicada, utilizando madeira (como fonte de combustão), contato com a fumaça, alta temperatura, dimensionamento inadequado de fornalhas, e eficiência de queima.

A fim de reduzir/ controlar a contaminação/ formação HPAs, as soluções podem ser (a) a escolha de uma área para a cultura da soja (a.1) distante de indústrias e chaminés de fumaça e / ou (a.2) longe das estradas de tráfego pesado e também por (b) aplicação (b.1) do processo de secagem, utilizando gás ou de eletricidade (como fontes de calor) - embora se saiba que as temperaturas elevadas também podem induzir a formação de HPAs e /ou (b.2) desenho adequado de secadores para otimização de eficiência da queima.

## CONCLUSÕES

As amostras de soja vendidas nos estabelecimentos comerciais (especialmente dedicados para veganos) apresentaram contaminação por HPAs em diferentes concentrações. Os principais HPAs encontrados foram Chry, 5MeChry e DaiP e a maior contaminação (em numero de HPAs por amostra - total: 6) foi em grãos cultivados nos estados de SP (202,46 µg/kg) e PR (38,78 µg/kg) (vendas em SC). A concentração mais altas nas amostras cultivadas no estado do RS foi de 35,22 µg/ kg) (vendido no mesmo estado).

Em relação à soja cultivada de forma orgânicos contra a convencional, não foram observadas diferenças de contaminação entre elas. É importante ressaltar que, apesar de ter sido detectada a presença

dos HPAs nas amostras estudadas, não há regulamentação para estes contaminantes.

**Agradecimento:** os autores agradecem a CAPES por fornecer subsídio para LPG.

Tabela 1. Dados de coleta e características das amostras de soja

Dados de coleta das amostras							Características							
Venda	Produção	Marca	Coleta		Cultivo <sup>a</sup>		Dimensões <sup>**</sup> (mm)		pH	Umidade				
			E <sup>b</sup>	G <sup>c</sup>	O <sup>d</sup>	C <sup>e</sup>	Média	Amplitude		DP <sup>f</sup>	CV% <sup>g</sup>	Aw <sup>h</sup>	Mc <sup>i</sup> (%)	
RS <sup>j</sup>	RS	NB <sup>*</sup>	NA <sup>k</sup>	L <sup>l</sup>	NA	C	7,10	6,81-7,40	0,22	3,16	6,53	0,6924	12,40	
		A	PE	NA	NA	C	7,31	6,20-7,86	0,41	5,56	6,53	0,6587	12,10	
		B	PE	NA	NA	C	7,09	6,72-7,73	0,29	4,09	6,38	0,5750	9,44	
		B	PE	NA	NA	C	6,83	6,13-7,58	0,42	6,24	6,47	0,6366	10,84	
		NB	NA	L	NA	C	7,38	7,10-7,80	0,17	2,27	6,46	0,6091	10,33	
		NB	NA	L	NA	C	7,48	6,40-8,65	0,53	7,15	6,34	0,6334	10,88	
		NB	NA	L	NA	C	6,56	6,27-6,86	0,17	2,54	6,46	0,6305	11,35	
		C	PE	NA	O	NA	6,75	5,82-7,33	0,45	6,65	6,49	0,6916	10,58	
		C	PE	NA	O	NA	6,96	6,47-7,52	0,27	3,89	6,50	0,6813	12,02	
		NB	NA	L	NA	C	6,77	6,21-7,30	0,27	3,93	6,38	0,6772	12,71	
		A	PE	NA	NA	C	6,77	5,90-7,43	0,43	6,50	6,46	0,6557	12,02	
		SC <sup>o</sup>	F	PE	NA	NA	C	6,49	5,71-7,46	0,44	6,79	6,50	0,5566	9,42
		SP <sup>m</sup>	NB	NA	L	NA	C	6,72	5,51-8,01	0,78	11,67	6,40	0,6249	10,73
			NB	NA	L	NA	C	7,05	6,32-7,91	0,51	7,24	6,48	0,6123	10,52
			NB	NA	L	NA	C	7,10	6,27-8,10	0,43	6,08	6,44	0,6245	10,38
			D	PE	NA	NA	C	7,31	6,84-7,83	0,27	3,63	6,53	0,6263	10,79
		Total: 17												
SC	RS	A	PE	NA	NA	C	7,29	6,42-7,82	0,31	4,26	6,53	0,6492	11,22	
		G	PE	NA	NA	C	7,58	7,12-9,06	0,50	6,57	6,41	0,6219	10,21	
		C	PE	NA	O	NA	5,56	4,88-5,92	0,27	4,90	6,50	0,7132	12,89	
PR <sup>p</sup>	H <sup>l</sup>	PE	NA	NA	O	NA	7,19	6,2-7,73	0,36	5,07	6,57	0,5606	9,61	



	H	PE	NA	NA	C	7,15	6,10-7,60	0,43	6,07	6,53	0,5816	9,53
	NB	NA	L	NA	C	7,68	6,84-8,70	0,48	6,24	6,56	0,7038	12,86
	NB	NA	L	NA	C	7,35	6,91-8,14	0,29	4,01	6,45	0,6919	12,00
	I	PE	NA	NA	C	7,67	7,13-8,35	0,47	6,13	6,40	0,6618	11,67
	NB	NA	L	NA	C	6,41	5,69-7,27	0,43	6,74	6,44	0,6605	11,64
	NB <sup>2</sup>	NA	L	NA	C	NR	NR	NR	NR	6,34	0,4295	3,02
SC	NB	NA	L	NA	C	6,62	5,60-7,51	0,50	7,61	6,48	0,5880	9,99
	NB	NA	L	NA	C	7,50	7,02-8,66	0,42	5,62	6,52	0,5794	9,63
	NB	NA	L	NA	C	6,81	6,07-7,64	0,44	6,41	6,49	0,5776	9,71
	NB	NA	L	NA	C	7,26	6,11-8,05	0,50	6,83	6,46	0,6347	11,07
	J <sup>3</sup>	PE	NA	NA	C	7,38	7,10-8,00	0,47	6,13	6,49	0,5981	9,38
	K	PE	NA	NA	C	7,40	6,71-8,43	0,44	5,97	6,39	0,6481	11,01
	F	PE	NA	NA	C	7,30	6,32-7,72	0,34	4,66	6,39	0,6300	10,86
	L <sup>4</sup>	PE	NA	O	NA	6,19	5,60-6,83	0,32	5,09	6,44	0,6351	11,52
SP	NB	P	NA	NA	C	6,05	5,60-6,40	0,24	3,91	6,40	0,6393	11,65
	NB <sup>5</sup>	P	NA	NA	C	NR	NR	NR	NR	6,40	0,5614	8,49
	M	PE	NA	NA	C	7,37	6,90-7,96	0,26	3,49	6,40	0,6548	11,47
	I	PE	NA	NA	C	7,45	7,12-8,78	0,40	5,35	6,39	0,5970	10,16
Total: 22												

**Total geral: 39**

<sup>a</sup>tipo de soja <sup>b</sup>embalada (PE: polietileno) <sup>c</sup>a granel <sup>d</sup>orgânica <sup>e</sup>comercial <sup>f</sup>desvio padrão <sup>g</sup>coeficiente de variação <sup>h</sup>atividade de água <sup>i</sup>conteúdo de umidade (n=3) <sup>j</sup>Rio Grande do Sul <sup>k</sup>não aplicável <sup>m</sup>São Paulo <sup>n</sup>não registrado <sup>o</sup>Santa Catarina <sup>p</sup>Paraná <sup>q</sup>orgânica [selo IDB] <sup>r</sup>aromatizada sabor churrasco <sup>s</sup>não transgênica <sup>t</sup>declara ser orgânica mas não possui certificação <sup>u</sup>descascada e partida <sup>v</sup>não especificada a marca <sup>w</sup>\*\*eixos altura/ espessura/ comprimento



SC	ND	7,97	1,37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9,34	
	ND	3,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	ND	3,63	4,92	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8,55	
	ND	9,65	11,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	20,85	
	ND	2,04	3,39	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5,43	
	ND	ND	1,79	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,79	
	ND	ND	2,81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2,81	
	0,5	9,25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9,75	
	ND	14,46	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	14,46	
	ND	1,72	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1,72	
SP	ND	1,29	10,71	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12,00	
	58,75	103,89	16,10	ND	18,52	3,71	3,49	ND	ND	ND	ND	ND	202,46	
	0,65	31,04	4,56	ND	1,36	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	37,61	
	ND	18,03	1,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	19,14	
HPA / amostra total														
	03/39	30/39	28/39	ND/39	02/39	01/39	01/39	ND/39	ND/39	ND/39	ND/39	09/39	ND/39	NA

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[FAO] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION.CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CX/CF 08/2/9) (2008). Joint FAO/WHO food standards programme Codex Committee on contaminants in foods, second session. Disponível em: [http://www.slv.se/upload/livstecknet/dokument/faktabank/livsmedelsteknik/CA\\_odeOfPractice\\_PAH.pdf](http://www.slv.se/upload/livstecknet/dokument/faktabank/livsmedelsteknik/CA_odeOfPractice_PAH.pdf). Acesso em 13 de janeiro de 2015.

[WHO] WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Programme on Chemical Safety (IPCS). Selected non- heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. Genebra, 1998. **Envarimental Health Criteria, 202**.

ALOMIRAH, H.; AL-ZENKI, S.; AL-HOOTI, S.; ZAGHLOUL, S.; SAWAYA, W.; AHMED, N.; KANNAN, K. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. **Food Control**, v. 22, p. 2028–2035, 2011.

AOAC.Official Methods of Analysis of AOAC International, (18th edition), Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, 2005.

BRITO, C. F. de. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em sedimentos. Avaliação da represa Parque Pedroso, Santo André, SP.** 2009. 158 p. Dissertação (Mestre em Ciências na área de tecnologia nuclear - materiais) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, associada a Universidade de São Paulo.

CAMARGO, M.; TOLEDO, M. Avaliação da Contaminação de Diferentes Grupos de Alimentos por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. **Brazilian Journal Food Technology**, v.5, p. 19-26, 2002.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. **Food Control**, v.14, p.49-53, 2003.

EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Panel on contaminants in food chain on a request from the Commission

related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. **EFSA J**, v. 235, p. 1–32, 2005.

European Commission (EU), Commission Regulation (EU) No. 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Off J Eur Union**, v. 215 p. 9–16, 2011.

FALCO, G.; DOMINGO, J. L.; LLOBET, J. M.; TEIXIDO, A.; CASAS, C.; MULLER, L. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Human Exposure through the Diet in Catalonia, Spain. **Journal of Food Protection**, v. 66, p. 2325–2331, 2003.

GARCIA, L. P.; GONÇALVES, B. L.; PANHO, G.; SCUSSEL, V. M. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, v. 8, 2014.

GOMES, D. P.; KRONKA, A. Z.; BARROZO, L. M.; DA SILVA, R. P.; SOUZA, A. L.; SILVA, B. M. S.; PANIZZU, R. C. Efeito da colhedora, velocidade e ponto de coleta na contaminação de sementes de soja por fungos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p.160-166, 2009.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER 2015. **Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–113**. Disponível em:

[http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/vol1\\_113.php](http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/vol1_113.php). Acesso em 13 de janeiro de 2015.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4º Ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

MARTORELL, I.; PERELLÓ, G.; MARTÍ-CID, R.; CASTELL, V.; LLOBET, J. M.; DOMING, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. **Environment International**, v. 36, p. 424–432, 2010.

MOHSENIN, N. N. Physical properties of plant and animal materials. **New York: Gordon and Breach Publishers**, 841 p., 1986.

PARAÍBA, L. C.; QUEIROZ, S. C. N.; MAIA, A. H. N.; FERRACINI, V. L. Bioconcentration factor estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3270–3276, 2010.

REINIK, M.; TAMME, T.; ROASTO, M.; JUHKAM, K.; TENNO, T.; KIIS, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in meat products and estimated PAH intake by children and the general population in Estonia. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, p. 429–437, 2007.

REY-SALGUEIRO, L.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GARCÍA-FALCÓN, M. S.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in infant foods. **Food Chem.** v. 115, p. 814–819, 2009.

SIQUEIRA, V. C.; RESENDE, O.; CHAVES, T. H. Contração volumétrica dos frutos de pinhão-mansão durante a secagem em diversas temperaturas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 36, p. 171–178, 2011.

VIVES, I.; GRIMALT, J. O.; GUITART, R. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. **Apuntes de Ciencia y Tecnología**, v. 3, p. 45–51, 2001.

## **CAPITULO 4**

### **LEVANTAMENTO DE NÍVEIS DE FUMONISINAS E CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS EM DIFERENTES MARCAS COMERCIAIS DE SOJA (*GLYCINE MAX L.*) PARA VEGANOS**





## **Levantamento de níveis de fumonisinas e contagem e identificação de fungos em diferentes marcas comerciais de soja (*Glycine max* L.) para veganos**

### **RESUMO**

Este trabalho aborda um levantamento da contaminação por fumonisinas (FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>) em grãos de soja vendidos para consumo direto, especialmente destinados a veganos. Os resultados obtidos mostram a contaminação por FBs presente em 13 % das amostras estudadas. A maior contaminação por FBs encontrada foi 2151,45 µg/kg (FB<sub>1</sub> + FB<sub>2</sub>). O valor médio de contaminação encontrado para FB<sub>1</sub> foi 17,69 µg/kg e 98,16 µg/kg para FB<sub>2</sub>. Os gêneros de fungos identificados foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As espécies isoladas foram *A. flaviceps*, *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. terreus*, *P. oxalicum*, *P. citreonigrum*, *F. semiseptum* e *F. verticillioides*. Sendo que apenas o *F. verticillioides* é um fungo toxigênico.

**Palavras-chave:** micotoxinas; fumonisinas; *Fusarium*; soja; grãos; veganos.

### **INTRODUÇÃO**

A soja é uma cultura de grande relevância na balança comercial brasileira, no suprimento do mercado interno e grande fluxo de exportações. E apesar da elevada produtividade por área, perdas de produção ocorrem devido ao ataque de patógenos. Perdas superiores a 20% da produção nacional, ou seja, 4 milhões de ton/ano foram estimadas somente para doenças de final de ciclo (Embrapa, 2000).

O grão da soja dá origem a produtos e subprodutos utilizados atualmente pela indústria de alimentos. A proteína de soja dá origem a produtos como (ingredientes de padaria, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês, e alimentos dietéticos). A soja integral é utilizada para a produção de óleo refinado e lecitina, que dá origem a inúmeros outros produtos (CONWAY, 2003). Sendo cada vez mais consumida e presente na dieta especialmente dos vegetarianos e veganos, representando uma importante fonte de proteína para os mesmos, e também por ser considerada como um alimento funcional (isoflavonas, saponinas, fitatos, inibidores de protease, fitosteróis, peptídeos com baixo peso molecular, oligossacarídeos e ácidos graxos poli-insaturados) (PENHA

et al., 2007). De acordo com Amaral (2006), considera-se que a soja é o único vegetal que contém uma proteína completa com qualidade equivalente à albumina do ovo (proteína conhecida como padrão ouro) podendo ser empregada como fonte única de proteínas, tanto a curto, como em longo prazo, e possuindo ainda baixo teor de sódio e teor elevado de Fe, Cu, Mg, P, K.

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por diferentes gêneros e espécies de fungos que podem ser formados e contaminar a soja, a mecanização agrícola presente durante a coleta é apontada com uma das responsáveis por esses contaminantes (JAY, 2005).

A mecanização agrícola realizada durante a produção e seleção de grãos, é apontada como uma importante responsável pelos danos mecânicos graves sofridos pelos grãos. E como consequência desencadeia uma série de efeitos negativos imediatos na qualidade como predispor à deterioração mais rápida, aumento da respiração e lixiviação de eletrólitos, maior suscetibilidade a micro-organismos (presentes na superfície das sementes ou no solo), maior sensibilidade aos fungicidas e redução no potencial de armazenamento (FESSEL et al., 2003).

A presença de certos fungos, que podem crescer em grãos (matéria-prima) e alimentos (já processados), requer bastante atenção, pois, além de deterioração, eles podem produzir toxinas. O gênero *Fusarium* (fungos de campo) em condições favoráveis de umidade elevada (externa: umidade relativa do ar e interna: teor de umidade - mc e água atividade - aw) e temperatura adequada podem produzir toxinas, tais como as do grupo das fumonisinas (FBs) (SAVI et al., 2014). As fumonisinas são produzidas por um número limitado de espécies de *Fusarium*, sendo *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, as espécies produtoras mais frequentemente isoladas em todo o mundo (MARIN et al., 2004).

A contaminação de alimentos por micotoxinas traz grandes prejuízos econômicos além de problemas de saúde. As perdas econômicas ocorrem por meio de perda direta de produtos agrícolas, perda de animais por óbito, doenças em humanos, diminuição da produtividade, animais com redução na velocidade de crescimento e produtividade, custos indiretos do sistema de controle de micotoxinas, custo de remoção da toxina para tornar o produto aceitável, rejeição do produto pelo mercado importador (SCUSSEL, 1998; DINIZ, 2002).

Estudos recentes têm demonstrado preocupações sobre a propagação da contaminação FB<sub>1</sub> e suas implicações para os seres humanos e saúde animal (BOUTIGNY et al., 2012). As FBs podem

desencadear vários efeitos negativos, elas danificam diferentes órgãos alvo, específicos para as diferentes espécies animais. Incluindo hepato e nefro carcinoma em ratos e coelhos (VOSS et al., 2007), e defeitos tubos neurais em hamster (GELINEAU-VAN WAES et al., 2009). Também pode afetar o sistema reprodutivo dos animais, provocando atraso na realização de maturidade sexual em suínos e redução de produção de esperma e qualidade do sêmen em machos desta forma comprometendo o potencial de fertilidade (GBORE et al., 2008). É associado frequentemente a câncer de esôfago em humanos (HERMANNNS et al., 2006). A International Agency for Research on Cancer (IARC) classifica a FB<sub>1</sub>, no grupo 2B como "um possível cancerígeno para os seres humanos" (IARC, 2002).

Dados sobre o milho e outros cereais, além de soja e ração (suínos / frango), já foram publicados (CASTELLÁ et al, 1999; NONES et al, 2014; CANÇADO, 2004; KOBASHIGAWA, 2010) e diferentes níveis de FBs foram encontrados. Apesar disso, os níveis relatados em soja têm sido baixos. Em comparação com a extensão de dados sobre cereais, não há dados expressivos para a soja (a maioria dos dados é de outras vagens). Provavelmente devido ao fato de que, a maior parte da produção de soja destina-se a produção de óleo, e mesmo que as toxinas possam ser transferidas durante a extração de óleo, não são contaminantes amplamente estudados nesse ramo.

No entanto, a partir dos grãos de soja são obtidos diversos produtos, tais como farinha de soja, proteína de soja, leite de soja, tofu, e esses alimentos são fonte importante de proteína, que é principalmente consumida por vegetarianos. Com relação à regulamentação internacional e nacional, não há limite máximo tolerável (LMT) previsto para a soja em ambas as legislações (BRASIL, 2011; CE, 2006). Apesar das contaminações relatadas nos trabalhos já publicados em vagens terem sido baixas, existe uma necessidade de mais dados, especificamente para o número crescente de consumidores desses grãos - os vegetarianos - como fonte de proteína. Com o aumento na produção de soja em todo o mundo nos últimos anos, que vem ocorrendo especialmente em zonas temperadas, as micotoxinas de campo também tendem a aumentar, devido ao fator climático bastante favorável para seu crescimento (CAST, 2003).

Considerando a escassez de informações relativas à contaminação por fumonisinas em soja, destinada principalmente ao consumo de veganos, foi realizado um levantamento, com objetivo de verificar os níveis de contaminação e os gêneros e espécies de fungos presentes nas amostras, para verificar sua segurança ao consumidor.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

*Amostras:* soja (total: 39), vendidas em embalagens (0,5 - 1 kg) e a granel, comercializado em lojas de produtos naturais, nos estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) (região Sul), no entanto, produzidos em diferentes regiões do Brasil (São Paulo (SP), Paraná (PR), RS, SC). A Tabela 1 mostra a origem das amostras e características.

*Produtos químicos:* (a) *padrões* - fumonisinas (FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos); (b) *solventes* - metanol, Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) todos grau HPLC; e água ultrapura, Millipore (Billerica, MA, EUA); (c) *os reagentes* – ácido fosfórico e acético, 2-mercaptoetanol, ortoftalaldeído (OPA), fosfato de sódio, Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), todos de grau HPLC; (d) meios de cultura - ágar batata dextrose (PDA) , ágar extrato de malte (MEA), Czapek extrato de levedura (CYA), Ágar Glicerol Nitrato 25% (G25N), peptona e cloranfenicol (DRBC), todos adquiridos da Himedia (Curitiba, PR, Brasil).

*Equipamentos:* Aqua Lab 4TE, Decagon Devices (São José dos Campos, SP, Brasil), estação de filtração a vácuo SPE (12 posições), AHO-6023, Phenomenex (Torrance, CA, Estados Unidos) e sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) Gilson (Villiers-le-Bel, França) com bomba isocrática, modelo 305, módulo coletor, modelo 805, injetor manual (loop 20 µl) e FLD, modelo 121.

*Outros materiais* – colunas de extração em fase sólida (SPE) N+ (amino quaternário), (500 mg, 6 ml), Applied Separations (Allentown, PA, Estados Unidos); coluna cromatográfica C<sub>18</sub> de 250 x 4,6 mm (comprimento x diâmetro), 5 µm (tamanho de partícula), modelo 201 TP54, Vydac (Hesperia, CA, Estados Unidos); filtro de membrana de nylon (tamanho de poro de 0,45 µm, diâmetro de 13 mm) e filtro de seringa de nylon (tamanho de poro de 0,45 µm, diâmetro de 4 mm), Waters (Mildford, MS, Estados Unidos).

### Métodos

*Coleta de amostra:* foram coletadas aleatoriamente em diversas lojas de produtos naturais e supermercados dos estados do RS e SC, de março a outubro de 2013. Os grãos de soja foram de diferentes marcas, tipos

(inteiros, descascados e aromatizados), orgânicos (sem pesticidas aplicados) e sistemas (tratamentos regulares de culturas) de plantio convencional. Foram adquiridos em embalagens (0,5 - 1 kg) de polipropileno (PP), seladas a quente ou adquiridas a granel, sacos plásticos de polietileno (PE). As amostras foram identificadas e armazenadas sob refrigeração ( $4 \pm 1$  °C) até a análise. A Tabela 1 apresenta detalhes em matéria de origem (onde eles foram adquiridas e produzidas), marcas pesquisadas, as condições de colheita e número de amostras.

*Análise de FBs (FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>):* foi realizada de acordo com o método AOAC 995.15 (2005). Resumidamente as micotoxinas foram extraídas com metanol:água (80:20), filtrou-se, e a limpeza foi realizada por meio de SPE N+ (previamente condicionada com metanol e metanol:água - 80:20) e o extrato foi carregado na coluna, e eluído com metano:ácido acético (99:1) e secou-se sob corrente de nitrogênio. Antes da quantificação por cromatografia, a amostra foi derivatizada com solução de OPA e 20 µL foram injetados no cromatografo, com filtros de emissão de 095 442 (intervalo de 430 - 470 nm) e 095 312 excitação (intervalo de 305 - 395 nm). A separação foi realizada por fase móvel isocrática de (metanol:tampão de fosfato de dihidrogenofosfato de sódio (0,1 M) - 77:23 - com pH ajustado para 3,3 com ácido fosfórico).

*Micologia: (a) contagem total de fungos* - foi realizada de acordo com o método relatado por Silva et al. (2010). A cada amostra (25 g) foi adicionada água peptonada estéril, em seguida, agitada num agitador rotativo (2 min) e as diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) foram realizadas. Aliquotas de cada diluição (0,1 ml) foram espalhadas (n = 2) na superfície do meio PDA contendo cloranfenicol e incubaram-se (7 dias, a 28 °C). Os dados reportados como unidades formadoras de colônias por grama (CFU/g) numa diluição de  $10^{-1}$ . *(b) identificação dos gêneros e espécies de fungos* - as cepas isoladas foram inoculadas individualmente nos meios PDA, MEA, G25N e CYA. A identificação das espécies foi realizada através do método de microcultura em ágar folha do cravo para *Fusarium* e Czapek-Dox para *Aspergillus* e *Penicillium* (WEBER e PITT, 2000). Os isolados foram examinados através de microscopia de luz (100x e ampliação 400x) e a identificação de espécies realizada de acordo com as chaves taxonômicas dos guias disponíveis (RAPER e FUNCHO, 1965; PITT, 1979; NELSON et al, 1983; PITT e HOCKING, 1997).

*Amostras características: (a) dimensões* - realizadas pela medição dos diâmetros e comprimentos de cada grão individualmente (50) de acordo com Siqueira et al. (2011) por meio de um paquímetro nos eixos

ortogonais (mm) (comprimento/eixo maior, largura/eixo médio e espessura/eixo menor) , e calculada como proposto por Mohsenin (1986). (b) *pH* - realizadas de acordo com o método de IAL (2008) e (c) *umidade* - (c.1) mc - pelo método gravimétrico da AOAC (2005), (n = 3) e o (c.2) aw - através do instrumento Aqualab aw (n = 3).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Validação do método* - o desempenho do método de para FBs foi adequado para o estudo, ou seja, os coeficientes de correlação das curvas de calibração foram maiores que 0,986 para ambas as toxinas (FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>), e os níveis de recuperação (realizada em três níveis de concentração 52, 100 e 150 µg/kg) variaram de 70 a 85 % e o LOQ foi 21 e 44,4 µg/kg, para FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, respectivamente.

*Amostras positivas e níveis* - apenas 13 % (05 / 39) das amostras de grãos de soja apresentaram contaminação por FBs (Tabela 2). A amplitude de variação dos níveis foi de LOQ (21,0) a 370,26 µg/kg para FB<sub>1</sub> e 44,4 a 1781,9 µg/kg para FB<sub>2</sub>. E apenas 3 % (01 / 39) das amostras apresentaram contaminação maior que o limite máximo tolerável (LMT) permitido para a pipoca (2000 µg/kg para total de FBs). Os dados obtidos foram comparados com pipoca devido a não existência um LMT para a soja (BRASIL, 2011; CE, 2011). O valor médio de contaminação encontrado para FB<sub>1</sub> foi 17,69 µg/kg e 98,16 µg/kg para FB<sub>2</sub>.

De acordo com o estudo de Castellá et al. (1999) realizado com milho e outros cereais da Espanha, o nível médio de FB<sub>1</sub> detectado foi de 8700 µg/kg. No entanto, nenhuma contaminação por FB<sub>2</sub> foi registrada. Em Nones et al. (2014) foi realizada a pesquisa em diferentes ingredientes de rações para suínos, apenas FB<sub>1</sub> foi detectada em soja (ingrediente para ração), atingindo uma contaminação média de 198,3 (amplitude de 40 - 537,8) µg/kg, a contaminação foi encontrada em 33 % do total de amostras analisadas. Para Cançado (2004), todas as amostras de soja estudadas (n = 90) apresentaram valores abaixo do LOQ (250 µg/kg) do método, porém é possível observar que o estudo apresentou um LOQ mais elevado que os demais, e a isso se atribui que provavelmente não se tenha encontrado amostras positivas. Por outro lado, no estudo realizado por Kobashigawa (2010), as FBs estavam presentes na maioria das amostras de ração de frango (58 %), sendo que 41 % estavam contaminadas com FB<sub>1</sub> (os níveis médios encontrados foram 60 e 90 µg/kg para FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, respectivamente). Apesar da

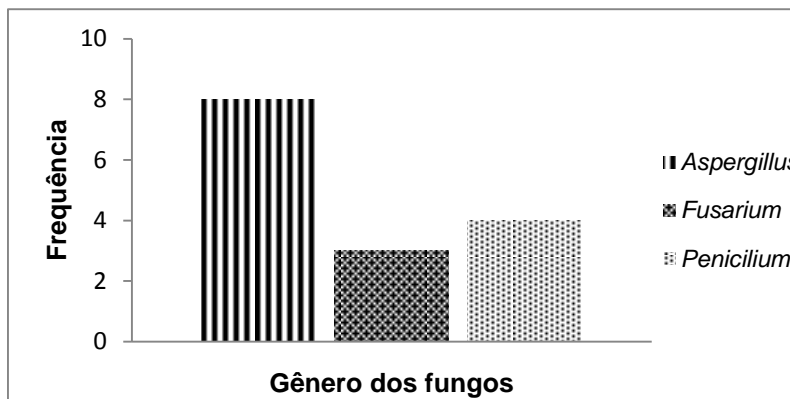
contaminação encontrada no presente estudo ter sido baixa, apenas 13 % do total de amostras, é importante ressaltar que foi registrado aumento na produção mundial de soja em áreas de zonas temperadas (boas / ótimas condições para fungos de campo crescerem), portanto, a presença de fungos e micotoxinas tendem a aumentar, além disso, a soja está associada a numerosa proliferação de fungos (CAST, 2003). É importante ressaltar, que apesar do percentual de contaminação encontrado ter sido baixo, uma amostra apresentou contaminação acima do LMT estabelecido pela legislação nacional para pipoca.

*Contagem de fungos e sua identificação:* (a) *contagem total de fungos* - 26 % das amostras de soja demonstraram alguma contaminação (de  $1 \times 10^1$  a  $2,39 \times 10^3$  UFC/g), sendo que a amplitude por estado foi de  $1,5 \times 10^1$  a  $5 \times 10^1$  para SP, e  $1 \times 10^1$  a  $2,39 \times 10^3$  para PR, e  $4 \times 10^1$  a  $8,5 \times 10^1$  para RS e  $1 \times 10^1$  a  $8 \times 10^1$  para SC, logo o estado produtor que apresentou a maior contaminação foi o PR; (b) *gêneros e espécies* - os gêneros identificados foram *Aspergillus* (21 %), *Penicillium* (10 %) e *Fusarium* (8%), sendo *Aspergillus* o gênero encontrado com maior frequência (Figura 1). As espécies isoladas foram *A. flaviceps* (8 %), *A. carbonarius* (5 %), *A. japonicus* (3 %), *A. terreus* (3 %), *P. oxalicum* (3 %), *P. citreonigrum* (8 %), *F. semisectum* (5 %) e *F. verticillioides* (3 %) (Tabela 2). Os fungos identificados com maior frequência foram o *A. flaviceps* e *P. citreonigrum*. Dos fungos identificados apenas o *F. verticillioides* é considerado toxigênico (produtor de fumonisinas). Em relação às nossas conclusões e dados relatados na literatura, no trabalho realizado por Nones et al. (2014), oito gêneros diferentes foram identificados em amostras de soja coletadas de silos de rações para suínos no Brasil. Eles foram *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, para além de *Cephalosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Trichoderma* e *Botrytis*. Autores relataram uma maior variedade de gêneros de fungos nas amostras provenientes de silos, do que em amostras coletadas em estabelecimentos comerciais, sugerindo que os grãos destinados ao consumo humano direto, são submetidos a uma seleção passando por máquinas de triagem (queimados / danificados), processo de embalagem e comercialização, sendo assim, mais seguros para o consumo. Em um estudo, realizado por Ivić et al. (2009) na Croácia com soja, a presença de *Fusarium* foi detectada e de 4 a 17 % das amostras de soja estavam contaminadas, sendo a maioria delas por *F. sporotrichioides* (34 %), seguido por *F. verticillioides* (15 %), *F. equiseti* (13 %), e *F. semitectum* (11 %). O *F. verticillioides*, que foi o segundo mais abundante no país, teve a sua presença em amostras comerciais de soja deste estudo. Em relação ao trabalho de Gomes et al. (2009), os autores isolaram a partir

das amostras de soja pesquisadas, 9 gêneros de fungos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phomopsis*, *Cercospora*, *Rhizopus*, *Epicoccum*, *Phoma* e *Cladosporium*). Essa contaminação alcançou até 90 % das amostras pesquisadas. Em Castellá et al. (1999) fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aphanocladium* e *Rhizopus* foram isolados em grãos de cereais espanhóis, em ordem decrescente, e a contagem média resultou em  $1,3 \times 10^4$ . Sendo uma contagem superior que a média encontrada nas amostras comerciais deste estudo (média:  $7 \times 10^1$  UFC/g).

Através dos dados obtidos (Tabela 2) é possível observar que nenhuma das amostras contaminadas pelas FBs foi observado crescimento fungico, demonstrando que em determinado momento estiveram presentes, produziram a micotoxina e foram inativados, corroborando com os inúmeros autores que salientam que não é necessário ter a presença do fungo / grãos visivelmente contaminados por fungos para encontrar as micotoxinas e a grande resistência das micotoxinas a fatores como temperaturas e outros tratamentos.

**Figura 1.** Total gêneros de fungos isolados nas amostras de soja em grãos (*Glycine max* L.) vendidas no Sul do Brasil



Em relação à contaminação de soja por FBs, que pode ocorrer no campo devido a condições de alta umidade ou a partir de contaminação cruzada nos estabelecimentos comerciais (embalagem aberta, exposta à alta umidade e esporos do ar). Para redução e / ou controle de FBs, a solução poderia ser através da utilização de (a) variedades de soja resistentes à *Fusarium*, (b) aplicação das boas



práticas agrícolas (espaços adequados entre as plantas, utilização correta de fertilizantes e irrigação, executar a colheita corretamente no período adequado (maturação fisiológica) com equipamentos pertinentes, evitar secar no campo), (c) melhor ajuste das máquinas agrícolas empregadas em toda cadeia produtiva a fim de evitar danos causados aos grãos, os tornando mais susceptíveis ao desenvolvimento de fungos, e (d) secagem adequada do produto, e (e) correta armazenagem dos produtos agrícola (ambientes limpos, livres de roedores e insetos, controle de aeração temperatura e umidade, movimentação do lote, iluminação), (f) controle das condições de umidade durante o transporte e venda do produto (não deixar embalagens aberta, exposta à alta umidade e esporos do ar), (g) evitar contaminação cruzada nos estabelecimentos comerciais.

## CONCLUSÃO

Apenas 13 % das amostras de grãos de soja apresentaram contaminação por fumonisinas. A amplitude de variação dos níveis foi de LOQ (21,0) a 370,26 µg/kg para FB<sub>1</sub> e 44,4 a 1781,9 µg/kg para FB<sub>2</sub>. O valor médio de contaminação para as amostras foi 17,69 µg/kg e 98,16 µg/kg, para FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, respectivamente. É importante destacar a inexistência de legislações nacional e internacional.

Com relação a contagem total de fungos 26 % das amostras demonstraram contaminação (amplitude:  $1 \times 10^1$  -  $2,39 \times 10^3$  UFC/g e média:  $7 \times 10^1$  UFC/g). O estado produtor que apresentou a maior contaminação foi o PR. Foram identificados os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, em ordem decrescente. Os fungos identificados com maior frequência foram o *A. flaviceps* e *P. citreonigrum*. Dos fungos identificados apenas o *F. verticillioides* é considerado toxigênico.

Não foram observadas diferenças de contaminação em relação à soja cultivada de forma orgânica comparada a convencional.

**Agradecimento:** os autores agradecem a CAPES por fornecer subsídio para LPG.

Tabela 1. Dados de coleta e características das amostras de soja

Dados de coleta das amostras						Características								
Venda	Produção	Marca	Coleta		Cultivo <sup>a</sup>		Dimensões <sup>**</sup> (mm)		pH	Umidade				
			E <sup>b</sup>	G <sup>c</sup>	O <sup>d</sup>	C <sup>e</sup>	Média	Amplitude		DP <sup>f</sup>	CV% <sup>g</sup>	Aw <sup>h</sup>	Mc <sup>i</sup> (%)	
SC	RS <sup>j</sup>	RS	NB <sup>*</sup>	NA <sup>k</sup>	L <sup>l</sup>	NA	C	7,10	6,81-7,40	0,22	3,16	6,53	0,6924	12,40
			A	PE	NA	NA	C	7,31	6,20-7,86	0,41	5,56	6,53	0,6587	12,10
			B	PE	NA	NA	C	7,09	6,72-7,73	0,29	4,09	6,38	0,5750	9,44
			B	PE	NA	NA	C	6,83	6,13-7,58	0,42	6,24	6,47	0,6366	10,84
			NB	NA	L	NA	C	7,38	7,10-7,80	0,17	2,27	6,46	0,6091	10,33
			NB	NA	L	NA	C	7,48	6,40-8,65	0,53	7,15	6,34	0,6334	10,88
			NB	NA	L	NA	C	6,56	6,27-6,86	0,17	2,54	6,46	0,6305	11,35
			C	PE	NA	O	NA	6,75	5,82-7,33	0,45	6,65	6,49	0,6916	10,58
			C	PE	NA	O	NA	6,96	6,47-7,52	0,27	3,89	6,50	0,6813	12,02
			NB	NA	L	NA	C	6,77	6,21-7,30	0,27	3,93	6,38	0,6772	12,71
			A	PE	NA	NA	C	6,77	5,90-7,43	0,43	6,50	6,46	0,6557	12,02
		SC <sup>o</sup>	F	PE	NA	NA	C	6,49	5,71-7,46	0,44	6,79	6,50	0,5566	9,42
		SP <sup>m</sup>	NB	NA	L	NA	C	6,72	5,51-8,01	0,78	11,67	6,40	0,6249	10,73
			NB	NA	L	NA	C	7,05	6,32-7,91	0,51	7,24	6,48	0,6123	10,52
			NB	NA	L	NA	C	7,10	6,27-8,10	0,43	6,08	6,44	0,6245	10,38
			D	PE	NA	NA	C	7,31	6,84-7,83	0,27	3,63	6,53	0,6263	10,79
Total: 17														
SC	RS	A	PE	NA	NA	NA	C	7,29	6,42-7,82	0,31	4,26	6,53	0,6492	11,22
		G	PE	NA	NA	NA	C	7,58	7,12-9,06	0,50	6,57	6,41	0,6219	10,21
		C	PE	NA	O	NA	NA	5,56	4,88-5,92	0,27	4,90	6,50	0,7132	12,89
	PR <sup>p</sup>	H <sup>l</sup>	PE	NA	O	NA	NA	7,19	6,2-7,73	0,36	5,07	6,57	0,5606	9,61



Tabela 2. Níveis de fumonisinas e fungos isolados de amostras positivas de soja comercializados no Sul do Brasil

Amostras		Fumonisin(µg/kg)*			Fungos		
Venda	Produção	FB <sub>1</sub>	FB <sub>2</sub>	Total	(UFC/g)**	Gênero	Espécie
RS <sup>a</sup>	RS	ND <sup>b</sup>	ND	ND	NG <sup>c</sup>	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	8,5x10 <sup>1</sup>	<i>Aspergillus</i>	<i>Flavipes</i>
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
SC	SC <sup>d</sup>	ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
	SP <sup>e</sup>	ND	ND	ND	5x10 <sup>1</sup>	<i>Fusarium</i>	<i>verticillioides</i>
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
	RS	14,38	ND	14,38	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	4x10 <sup>1</sup>	<i>Aspergillus</i>	<i>carbonarius</i>
						<i>Aspergillus</i>	<i>parasiticus</i>
					NG	NG	NG
	PR <sup>f</sup>	370,26	1781,19	2151,45	NG		
		ND	ND	ND	8,5x10 <sup>1</sup>	<i>Fusarium</i>	<i>Semitectum</i>
		ND	ND	ND	1x10 <sup>1</sup>	<i>Fusarium</i>	<i>semitectum</i>
						<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i>
		ND	ND	ND	NG	NG	NG
		ND	ND	ND	NG	NG	NG

SC	ND	ND	ND	ND	2.39x10 <sup>3</sup>	<i>Aspergillus</i>	japonicas
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	137.95	552.22	690.17	690.17	NG	NG	NG
	167.32	ND	167.32	167.32	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	1x10 <sup>1</sup>	<i>Aspergillus</i>	<i>carbonarius</i>
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	8x10 <sup>1</sup>	<i>Aspergillus</i>	<i>flavipes</i>
	ND	ND	ND	ND	7x10 <sup>1</sup>	<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i>
SP	ND	ND	ND	ND	NG	<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i>
	ND	ND	ND	ND	1.5x10 <sup>1</sup>	<i>Aspergillus</i>	<i>flavipes</i>
	ND	ND	ND	ND	NG	<i>Aspergillus</i>	<i>terreus</i>
	ND	1494.75	1494.75	1494.75	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	<i>Penicillium</i>	<i>oxalicum</i>
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
	ND	1494.75	1494.75	1494.75	NG	NG	NG
	ND	ND	ND	ND	NG	NG	NG
Positivas (%) / total amostras 04 (10) / 39 03 (8) / 39							
NA NA NA NA							

<sup>a</sup>Rio grande do Sul <sup>b</sup>não detectado <sup>c</sup> não houve desenvolvimento <sup>d</sup>São Paulo <sup>e</sup>Santa Catarina <sup>f</sup>Paraná \*LOQ: 21 e 44.4 µg/kg para FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, respectivamente \*\*UFC/g per gram.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AMARAL, V. M. G. A importância da soja como alimento funcional para qualidade de vida e saúde. Dissertação (Obtenção do título de Mestre profissional em Engenharia Mecânica / Gestão da qualidade total) p.86, 2006.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, (18th edition), Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, 2005.

BOUTIGNY, A. L.; BEUKES, I.; SMALL, I.; ZUHLKE, S.; SPITELLER, M.; VAN RENSBURG, B. J. Quantitative detection of *Fusarium* pathogens and their mycotoxins in South African maize. **PlantPathol**, v. 61, p. 522–531, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC N°7 de 18 de fevereiro de 2011. Diário Oficial da União, Brasília, 22 de fevereiro de 2011.

CANÇADO, R. A. **Avaliação microbiológica e micotoxicológica de grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max* (Linné) Merrill) provenientes de cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas**. 2004, 148 f. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Paraná.

CAST. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. **Ames IA: Council for Agricultural Science and Technology**, 2003.

CASTELLÁ, G.; BRAGULAT, M. R.; CABANES, F. J. Surveillance of Fumonisin in Maize-Based Feeds and Cereals from Spain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 4707-4710, 1999.

COMMISSION REGULATION (EC) n° 1881/2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union. p. L364/5-L364/24, 2006.

CONWAY, G. **Produção de alimentos no século XXI: biotecnologia e meio ambiente**. São Paulo: Estação Liberdade, 2003. 375p.

DINIZ, S. P. S. **Micotoxinas**. 1 ed. Campinas: Livraria Rural, 2002. 181p.

EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 2000/01**. Londrina: Embrapa Soja, 2000.

FESSEL, S. A.; SADER, R.; PAULA, R. C.; GALLI, J. A. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, p. 70-76, 2003.

GBORE, F. A.; EGBUNIKE, G. N. Testicular and epididymal sperm reserves and sperm production of pubertal boars fed dietary fumonisin B<sub>1</sub>. **Anim Reprod Sci.**, v. 105, p. 392-397, 2008.

GELINEAU-VAN WAES, J.; VOSS, K. A.; STEVENS, V. L.; SPEER, M. C.; RILEY, R. T. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 56, p. 145–181, 2009.

GOMES, D. P.; KRONKA, A. Z.; BARROZO, L. M.; DA SILVA, R. P.; SOUZA, A. L.; SILVA, B. M. S.; PANIZZU, R. C. Efeito da colhedora, velocidade e ponto de coleta na contaminação de sementes de soja por fungos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p.160-166, 2009.

HERMANN, G.; PINTO, F. T.; KITAZAMA, S. E.; NOLL, I. B. Fungos e fumonisinas no período pré-colheita do milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 7-10, 2006.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4º Ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Fumonisin B<sub>1</sub>. **IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk to human, some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene**. In IARC Geneve (ed.), v. 82, p. 301-366, 2002.

IVIĆ, D.; DOMIJAN, A.; PERAIĆ, M.; MILIČEVIĆ, M.; CVJETKOVIĆ, B. *Fusarium* spp. Contamination of wheat, maize, soybean, and pea in Croatia. **Arh Hig Rada Toksikol**, v. 60, p. 435-442, 2009.

JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

KOBASHIGAWA, E. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em sistema de produção de frango de corte no Estado de São Paulo.** 2010, 114 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade de São Paulo.

MARIN, S.; MAGAN, N.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Fumonisin-producing strains of *Fusarium*: a review of their ecophysiology. **J Food Prot**, v. 5, p. 1792–1805, 2004.

MOHSEIN, N. N. Physical properties of plant and animal materials. **New York: Gordon and Breach Publishers**, 841 p., 1986.

NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; MARASSAS, W. F. O. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. **Pennsylvania State University Press**, University Park, p. 193, 1983.

NONES, J.; SAVI, G. D.; HORN, M. B., SCUSSEL, V. M. Evaluation of fungi and fumonisins in swine feed and its ingredients on a farm in Santa Catarina, Brazil. **Nutritime**, v.11, p. 3238 – 3245, 2014.

PENHA, L. A. O.; FONSECA, I. C. B.; MANDARINO, J. M.; BENASSI, V. T. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico, **B.CEPPA**, v. 25, p. 91-102, 2007.

PITT, J. I. **The genus *Penicillium* and its teleomorphics states *Eupenicillium* and *Talaromyces*.** . London: Academic Press, p. 634, 1979.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**, 2ª ed. Chapman & Hall, Cambridge, p. 593, 1997.

SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Effects of Ozone Gas exposure on toxigenic fungi species from *Fusarium* , *Aspergillus* and *Penicillium* genera. **Ozone: Science & Engineering**, v. 36, p. 140108035547000-152, 2014.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos.** 1ed. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.



SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela (4ª ed.), p. 624, 2010.

VOSS, K. A.; SMITH, G. W.; HASCHEK, W. M. Fumonisin: toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. **Anim Feed SciTechnol**, v. 137, p. 299–325, 2007.

WEBER, R. W. S; PITT D. Teaching techniques for mycology: 11. Riddell's slide cultures. *Mycologist*. v. 14, p. 118-120, 2000.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os tratamentos aplicados demonstraram que o processo de secagem dos grãos contribui para a formação de HPAs.

Com relação aos tratamentos térmicos efetuados, 70 e 130 °C, e 90, 110 e 150 °C não diferiram estatisticamente, para o somatório dos HPAs estudados, conforme o teste DMS de Fisher, com 5 % de significância as medias dos tratamentos. O maior somatório de HPAs foi detectado no tratamento térmico a 70 °C pelo período de 6 horas. E o menor somatório de HPAs foi observado no tratamento de 110 °C por 2 horas.

Os HPAs que apresentaram maiores níveis de contaminação foram criseno, 5-metilcriseno, dibenzo(ai)pireno e benzo(a)antraceno.

O coeficiente linear de Person demonstrou resultado fortemente positivo para todos os tratamentos (70 °C = 0,921, 90 °C = 0,993, 110 °C = 0,926, 130 °C = 0,999, 150 °C = 0,999).

As amostras de soja vendidas nos estabelecimentos comerciais apresentaram os dois contaminantes pesquisados (HPAs e FBs), a maior contaminação foi a por HPAs. É importante ressaltar que para ambos contaminantes não existe legislação para a regulamentação dos limites máximos toleráveis.

Os principais HPAs encontrados foram Chry, 5MeChry e DaiP. Foi encontrada simultaneamente a presença de mais da um HPA nas amostras a que apresentou maior numero de HPAs foram detectados seis.

Não foram observadas diferenças de contaminação entre a soja cultivada de forma orgânicos contra convencional.

Foram encontrados três gêneros de fungos na soja *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus*, sendo o mais frequente o ultimo gênero citado. Apenas um dos fungos isolados e identificados é produtor de micotoxinas (*Fusarium verticillioides*).



## **APÊNDICE**



## **1.1. APÊNDICE A – Artigo de revisão publicado pela revista PUBVET**

GARCIA, L.P. et al. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 19, Ed. 268, Art. 1788, Outubro, 2014.



**PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.**

### **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão**

---

Laura Pereira Garcia, Bruna Leonel Gonçalves, Gelso Panho, Vildes Maria  
Scussel

Laboratório de Micotoxilogia e Contaminantes Alimentares (LABMICO),  
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de  
Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

---

## 1.2. APÊNDICE B – Artigo publicado pela revista Food Additives & Contaminants: Part A

*Food Additives & Contaminants: Part A*, 2013  
<http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2013.810347>



### Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Argentina and Brazil

Victor A. Garcia Londoño<sup>a</sup>, Laura P. Garcia<sup>b</sup>, Vildes M. Scussel<sup>b</sup> and Silvia Resnik<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamentos de Industrias y Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina; <sup>b</sup>Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brazil; <sup>c</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), Buenos Aires, Argentina

(Received 13 March 2013; final version received 28 May 2013)



### 1.3. APÊNDICE C – Comprovante de período na Argentina – Projeto Mercosul



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y  
NATURALES  
Tecnología de los Alimentos

#### CERTIFICATE

La alumna **Laura Pereira Garcia** (bacharel em Química de Alimentos), realizó en la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales en los Departamentos de Química Orgánica y de Industrias bajo la dirección de la Profesora Dra. Silvia Resnik (Coordinadora Argentina) y el Grupo Argentino interviniente en el Proyecto "Evaluación de la calidad de la leche y productos lácteos, contaminación de los piensos para el ganado lechero y su efecto sobre la seguridad de la leche en cuanto a la formación de micotoxinas". Durante el periodo del 30 de septiembre al 30 de diciembre de 2012 de su estadia en Buenos Aires completó muy satisfactoriamente la Misión de Estudio como estudiante de maestria. Realizó trabajo experimental sobre la contaminación de hidrocarburos policíclicos aromáticos en leche en polvo de ambos países y contribuyó a la redacción de dos trabajos científicos.

Cordialmente,

**Prof. Silvia Resnik**

Coordinadora Argentina del Proyecto PPCP 011/2011  
Cooperação Internacional Brasil-Argentina - CGCI 072/2010

Buenos Aires, 29 de diciembre de 2012

DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS  
FACULTAD de CIENCIAS EXACTAS y NATURALES  
CIUDAD UNIVERSITARIA  
1100 BUENOS AIRES - ARGENTINA

## 1.4. APÊNDICE D – Comprovante de apresentação de Palestra



**VI Simpósio**  
Sul de Pós-colheita de Grãos

**“ GRÃOS sadios  
e a Indústria de  
ALIMENTOS ”**

**03 a 05**  
de junho de 2014  
Associação Atlética e  
Recreativa ALFA - AARA  
Chapécó - SC

# CERTIFICADO

A Associação Brasileira de Pós-Colheita confere o presente certificado a

**Laura Pereira Garcia**

pela participação no VI Simpósio Sul de Pós-colheita de Grãos, evento realizado de 03 a 05 de junho de 2014, na Associação Atlética e Recreativa ALFA-AARA, Chapécó-SC, na condição de **PALESTRANTE**.

**Palestra: A secagem de grãos e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)**

  
 Luis dos Santos  
 Coordenador do evento

  
 Vilões Maria Scussel  
 UFSC - Diretora da ABRAPÓS-SC

  
 Ronaldo Ernesto Muller  
 Cotripal - Diretor da ABRAPÓS-RS

Promoção




Co-promoção









Realização




Apóio





Co-promoção









Co-promoção



